

PERKEMBANGAN BIOLOGI MOLEKULER PADA KELAPA SAWIT

Rokhana Faizah

Abstrak - Biologi molekuler merupakan cabang dari ilmu biologi yang mempelajari tentang dasar molekul pada organisme, termasuk mekanisme dan interaksi molekuler. Biologi molekuler pada pemuliaan tanaman berperan sebagai teknik yang sangat mendukung program pemuliaan kelapa sawit. Dukungan tersebut, salah satunya adalah berupa teknik marka molekuler yang digunakan dalam program pemuliaan, bergantung pada tujuan yang ingin dicapai, antara lain yaitu untuk seleksi tanaman tahan/adaptif pada lingkungan tercekam, seleksi karakter spesifik secara molekuler, identifikasi kekerabatan dan keragaman genetik, dan homozigositas tanaman berdasarkan alel per lokus. Deteksi molekuler tersebut dapat dilakukan berbasis DNA, RNA, dan protein. Manfaat yang diperoleh dari teknik biologi molekuler pada program pemuliaan sangat beragam dan mempercepat proses perakitan bahan tanaman unggul kelapa sawit. Untuk itu, tujuan dari penulisan ini adalah untuk menguraikan perkembangan, macam, dan manfaat teknik biologi molekuler yang mendukung program pemuliaan kelapa sawit.

Kata kunci: marka molekuler, metode deteksi DNA/RNA, molecular breeding, pemuliaan kelapa sawit.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit memiliki ukuran genom sekitar 1.8 miliar pasang basa yang membentuk untaian DNA dengan kromosom $2n=32$ (Singh et al., 2013). Ilmu biologi molekuler terus mengalami perkembangan seiring dengan kemajuan ilmu di bidang biologi sel, pemuliaan, genetika, fisiologi sel, statistik, bioinformatika, dan kultur jaringan (Ahmar et al., 2020). Teknik biologi molekuler dimanfaatkan untuk mendukung program pemuliaan, antara lain memperpendek siklus seleksi tanaman, mendapatkan varietas unggul adaptif cekaman lingkungan, dan tanaman tahan penyakit (Ahmar et al., 2020; John Martin et al., 2022).

Perkembangan bioteknologi kelapa sawit telah merambah pada berbagai lini di bidang pemuliaan tanaman, diantaranya teknik pemanfaatan big data molekuler (Teng et al., 2020), teknik transformasi genetik atau rekayasa genetika (Hanin et al., 2020; Yarra et al., 2019), metode *Marker Assisted Breeding* (MAB), *Marker Assisted Selection* (MAS) (Gan et al., 2021; Hasan et al., 2021), dan teknik kultur sel atau jaringan (Weckx et al., 2019; Yarra et al., 2019).

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

Rokhana Faizah (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158, Indonesia
Email: rokhanafaizah@gmail.com

Teknik-teknik tersebut merupakan beberapa ilmu yang berkembang dari bioteknologi modern dan *omics research*. Perkembangan ilmu dan teknologi semakin membuka peluang untuk menciptakan varietas kelapa sawit unggul dengan periode seleksi yang lebih dini dan efisien (Hasan et al., 2021; Leão et al., 2022).

Penemuan fundamental abad ke-20 oleh Darwin dan Mendel menghasilkan ilmu yang mendasari pemuliaan tanaman dan genetika (Berry & Browne, 2022). Penelitian integrasi tentang bioteknologi, genom, dan aplikasi marka (penanda) molekuler yang dipadukan dengan program pemuliaan konvensional membawa ilmu pemuliaan tanaman melalui molekuler terus berkembang pada abad ke-21 dengan meningkatkan manfaat dari tanaman untuk kebutuhan manusia (John Martin et al., 2022; Nyouma et al., 2019; Wei et al., 2021). Ilmu ini terus berkembang seiring dengan makin banyaknya penelitian pemuliaan dan kolaborasi dari para ilmuwan dari berbagai tanaman (John Martin et al., 2022; Siddiqui et al., 2021). Tujuan penulisan ini adalah mengetahui perkembangan biologi molekuler dan aplikasinya dalam mendukung program pemuliaan kelapa sawit.

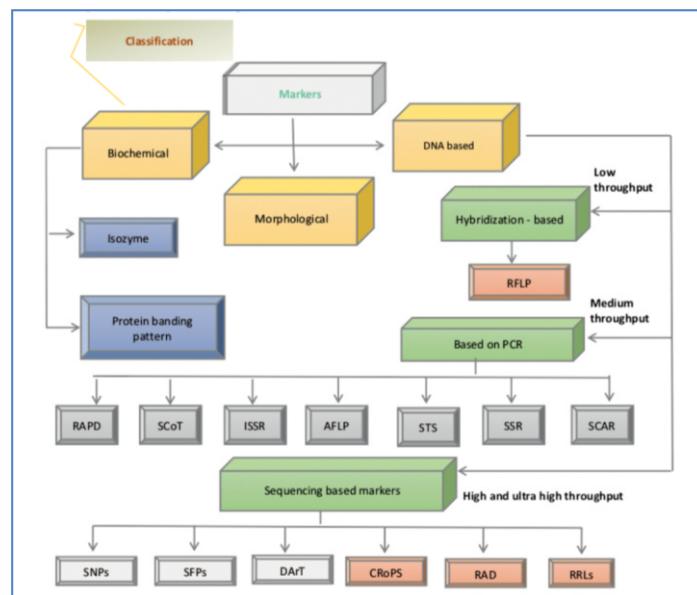
METODE DETEKSI PCR DAN NON-PCR

Klasifikasi marka molekuler terdiri dari 3 tipe, yaitu biokimia, morfologi, dan DNA-based (Gambar 1). Metode pengujian dan deteksi suatu molekul DNA, RNA, dan protein tanaman dapat dilakukan

menggunakan marka atau penanda dari komponen sel tersebut. Metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi molekul tersebut yaitu dengan pendekatan berdasarkan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) maupun non-PCR (Dewi et al., 2021; Jan et al., 2023).

Metode yang menggunakan pendekatan PCR antara lain AFLP (*Amplified Fragment Length*

Polymerase), RAPD (*Random Amplified Polymerase DNA*), SSR (*Simple Sequence Repeats*) (Gan et al., 2021; Kuang et al., 2022), SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (Leão et al., 2022), ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (Luo et al., 2020; Yu et al., 2021), RFLP, dan RAMs (*Random Amplified Microsatellite*) (Amiteye, 2021).



Gambar 1. Klasifikasi penanda berdasarkan biokimia dan DNA-based (Jan et al., 2023).

Metode dengan pendekatan non-PCR antara lain hibridisasi non-radioaktif dengan menggunakan gen pelacak (probe) (Hutana et al., 2023), deteksi protein dengan Proteomik (Al-Amrani et al., 2021), dan uji serologi dengan antibodi dan antigen (I-ELISA; *Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (Lin et al., 2018) yang merupakan bagian dari EIA (*Enzyme ImmunoAssay*), *Dot Blot Immunobinding Assay* (DIBA) (Lagos-Kutz et al., 2023), RIPA (*A Rapid Immunofilter Paper Assay*) (Kongsuphol et al., 2021), dan *Tissue Blot Immuno Assay* (TBIA) (Abd El-Aziz et al., 2019). Metode-metode tersebut dapat mendukung program pemuliaan tanaman untuk mendapatkan varietas unggul.

PENANDA DNA ACAK DAN TERPAUT

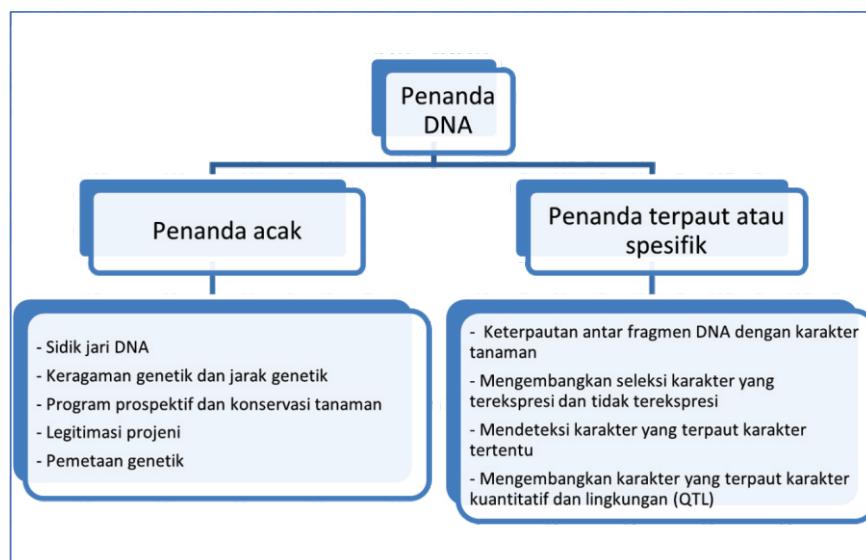
Penanda *dioxyribonucleic acid* (DNA) diklasifikasikan ke dalam 2 kelas, yaitu penanda

acak (*random markers*) dan penanda terpaut atau spesifik (*linked-markers*) (Gambar 2) (Amiteye, 2021). Penanda acak digunakan untuk *fingerprinting*, mendeteksi dan mengetahui klon atau progeni kelapa sawit (Simamora et al., 2022; Wening et al., 2020), mempelajari keragaman genetik dan jarak genetik kelapa sawit (Gan et al., 2021), program prospektif dan konservasi tanaman (Leão et al., 2022), legitimasi projek (Teh et al., 2019), serta pemetaan genetik (Bohry et al., 2021). Penanda spesifik terpaut diaplikasikan untuk mengetahui keterpautan antara fragmen DNA dengan karakter tanaman (Amiteye, 2021). Manfaat umum penanda spesifik adalah untuk mengembangkan seleksi yang efisien terutama seleksi karakter yang tidak terekspresi, seperti ketahanan hama penyakit dimana gejala tidak muncul dan atau seleksi dini karakter tertentu (Gutiérrez et al., 2021), serta mendeteksi karakter yang terpaut karakter tertentu (Liu et al., 2020; Teh et al., 2020). Karakter-karakter



yang saling terkait satu sama lain, dikendalikan banyak gen, dan dipengaruhi lingkungan dapat diketahui dengan pendekatan metode *Quantitative Trait Loci* (QTL) (Aguilar-Benitez et al., 2020; Gutiérrez et al., 2021; Hasan et al., 2021a). Metode QTL adalah daerah dari genom yang berasosiasi dengan efek karakter kuantitatif (Babu et al., 2019).

Prinsipnya, QTL dapat berupa 1 gen atau sekelompok gen yang terkait dengan karakter lainnya (Ong et al., 2019). Analisis QTL membutuhkan penanda molekuler yang didukung dengan karakter kualitatif dan kuantitatif di lapangan pada beberapa generasi progeni (Bohry et al., 2021; Teh et al., 2020).



Gambar 2. Manfaat penanda DNA berdasarkan pada klasifikasi penanda acak dan penanda terpaut atau spesifik.

PENANDA MOLEKUL RNA

Metode yang diaplikasikan untuk mendeteksi molekul RNA adalah teknik RT-qPCR (*Reverse Transcriptase quantitative Polymerase Chain Reaction*) (Paul et al., 2020; Zhao et al., 2021). Metode RT-qPCR merupakan deteksi molekuler berbasis RNA utas tunggal yang disintesis menjadi cDNA. Metode ini berhubungan dengan analisis ekspresi gen pada tanaman terhadap perubahan akumulasi kelipatan (*fold change*) pada gen fungsional tertentu terhadap gen internal konstitutif atau *house keeping gene*. Ekspresi gen bermanfaat untuk mendapatkan respon gen fungsional, regulatif maupun konstitutif dari perubahan lingkungan maupun aktivitas biosintesis tanaman.

Terdapat 2 (dua) metode perhitungan analisis ekspresi gen, yaitu berdasarkan kuantifikasi absolut dan kuantifikasi relatif (Hatakeyama et al., 2022).

Kuantifikasi absolut merupakan perhitungan metode matematik yang menghubungkan sinyal PCR dengan memasukkan *copy number* menggunakan kurva kalibrasi dan tidak memerlukan referensi. Sedangkan kuantifikasi relatif adalah perbandingan antara nilai akumulasi gen target dengan gen internal atau konstitutif (Hatakeyama et al., 2022).

Pendekatan pengembangan marka berbasis RNA antara lain *inter small RNA polymorphism* (iSNAP), cDNA-AFLP, cDNA-RFLP, dan EST-SSR (Hasan et al., 2021). Prinsip dari penanda-penanda tersebut adalah pengembangan primer berbasis komplementari RNA atau komplementari dari *flanking region* (daerah pengapit) menjadi komplementari DNA (cDNA) pada sekuen target untuk men-generate pola polimorfik (Amiteye, 2021). Penjabaran untuk perbedaan masing-masing penanda tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbedaan RNA-based markers (RBMs) dan iSNAP pada resistance-gene based markers (RGMs) (Poczai et al., 2013).

Aspek	<i>Resistance-gene based markers</i> (RGMs)	<i>RNA-based markers (RBMs)</i>		
	iSNAP	cDNA-AFLP	cDNA-RFLP	EST-SSR
Kelimpahan (<i>abundance</i>)	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Sedang
Reproduktivitas (<i>reproducibility</i>)	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi
Polimorfisme	Tinggi	Tinggi	Sedang	Sedang
Informasi sekuens utama	Iya	Tidak	Tidak	Tidak
Visualisasi	<i>Silver stained PAGE</i>	<i>Silver stained PAGE</i>	<i>Silver stained PAGE</i>	<i>Silver stained PAGE</i>
Spesifitas	Tinggi	Sedang	Tinggi	Tinggi
Ukuran pita	100-1.500 bp	100-1.000 bp	100-3.500 bp	100-400 bp
<i>Homoplasy</i>	Tidak dilaporkan	Sedang	Rendah	Rendah
Artefak reaksi				
1. <i>Uniparental bands</i>	Tidak dilaporkan	Jarang	Tidak	Tidak
2. Heteroduplexes	Dapat terjadi	Tidak	Tidak	Tidak
3. <i>Nested priming</i>	Dapat terjadi	Tidak	Tidak	Tidak

APLIKASI MARKA MOLEKULER PADA MAS DAN MAB

Penanda molekuler pada tingkat genom, DNA, RNA, maupun protein kelapa sawit telah banyak dilakukan untuk mendukung program pemuliaan kelapa sawit. *Marker Assisted Selection* (MAS) dan *Marker Assisted Breeding* (MAB) merupakan aplikasi molekuler yang digunakan untuk mendeteksi dan melakukan seleksi dini terhadap sifat-sifat tertentu yang diharapkan pemulia (Hasan et al., 2021; Leão et al., 2022). Seleksi tahap awal ini dapat mengurangi waktu yang dibutuhkan dan karakter tertentu dapat cepat diketahui dan dimanfaatkan. Beberapa marka molekuler telah diaplikasikan pada kelapa sawit, antara lain *Random Amplified Microsatellite* (RAMs) untuk variasi genetik *Oryctes rhinoceros* (L.), *sequence-related amplified polymorphism* (SRAP) untuk keragaman genetik, penanda gen ketebalan cangkang SHELL dan SNP untuk kontaminasi non-tenerima dan uji legitimasi projeni dan tetuanya, serta

gen choline monooxygenase (CMO) untuk marka toleransi kekeringan pada kelapa sawit.

Penanda *Random Amplified Microsatellite* (RAMs) dengan 7 primer acak dapat diaplikasikan untuk mendeteksi variasi genetik 6 populasi *Oryctes rhinoceros* (L.) pada perkebunan kelapa sawit di Selangor, Perak, Pahang, dan Medan (Manjeri et al., 2011). Percobaan tersebut menggunakan perlakuan feromon perak (PP) dan cahaya perak (LP). Jarak koefisien *O. rhinoceros* berkisar antara 0.422 dan 0.736 dan terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok I terdiri dari Selangor dan Perak, sedangkan kelompok II meliputi Pahang dan Medan (Manjeri et al., 2011).

Sebanyak 33 primer *sequence-related amplified polymorphism* (SRAP) telah dimanfaatkan untuk analisis keragaman genetik dan struktur populasi pada 223 akses kelapa sawit yang berasal dari 4 (empat) provinsi di China (Zhou et al., 2021). Marka SRAP tersebut mampu mengelompokkan akses menjadi 3 kelompok, yaitu 1) akses di Provinsi Yunnan,



Guangxi, Hainan; 2) akses di Provinsi Hainan dan Guangdong; dan 3) akses campuran dari ke-4 provinsi tersebut. Berdasarkan struktur populasi, akses-akses tersebut juga memiliki keragaman tertinggi yang dibagi menjadi 3 sub-populasi. Prinsip dari desain marka SRAP adalah marka molekuler berbasis teknologi PCR yang efisien untuk dengan mentargetkan runutan nukleotida yang secara acak terdistribusi ke dalam genom tanaman. Secara umum, marka SRAP merupakan gabungan dari prinsip marka molekuler RAPD dan AFLP (Zhou et al., 2021).

Penggunaan penanda gen SHELL efektif untuk mengetahui kontaminasi dura pada populasi tenera kelapa sawit (Teh et al., 2019). Penanda SHELL ini sangat bermanfaat bagi pekebun kelapa sawit yang ingin memisahkan atau seleksi bibit dura dan tenera sebelum ditanam di kebun. Di sisi lain, penanda SHELL belum efektif untuk mengetahui tenera yang tidak sah dengan tetuanya pada program pemuliaan (Teh et al., 2019). Perbedaan identitas ketebalan cangkang buah kelapa sawit dapat menimbulkan masalah jangka panjang 12 tahun siklus seleksi pemuliaan dan 25 tahun pada perkebunan komersial. Untuk mengatasi hal tersebut, telah didesain penanda 200 SNP yang dapat digunakan guna membedakan dura dan tenera pada pengujian legitimasi dengan tingkat keakuratan mencapai 97% (Teh et al., 2019). Penanda SNP tersebut dapat dimanfaatkan sebagai kontrol kualitas secara rutin untuk menjaga kemurnian genetik tenera elit program pemuliaan yang berkelanjutan.

Gen CMO merupakan gen target yang merespon kondisi lingkungan abiotik terhadap cekaman salinitas dan kekeringan (Suraninpong et al., 2023). Pengembangan marka molekuler gen CMO diaplikasikan untuk monitoring toleransi kekeringan pada kelapa sawit. Gen tersebut efektif untuk menskrining kelapa sawit yang toleran kekeringan melalui pendekatan teknik *single-strand conformation polymorphism* (SSCP) (Suraninpong et al., 2023). Teknik SSCP berhasil membedakan posisi C/T SNP dari runutan nukleotida CMO-03 pada gen CMO. Perubahan asam amino dari serin menjadi fenilalanin tidak mempengaruhi struktur dan sifat protein fungsional. Hal ini disebabkan karena toleransi kekeringan merupakan respon yang sangat kompleks yang dipengaruhi faktor genetik, yang melibatkan sinyal stress lingkungan, regulasi osmotik, transportasi air, serta gen-gen yang berperan menjaga kestabilan

homeostatis seluler tanaman (Suraninpong et al., 2023). Desain marka CMO tersebut mampu mendeteksi ukuran fragmen yang kecil 100 bp hingga 400 bp dan memiliki potensi yang tinggi untuk seleksi tanaman toleran kekeringan, terutama pada tetua La Mé S5, populasi La Mé S5 dan populasi Surat Thani 2 sebagai material genetik toleran kekeringan (Suraninpong et al., 2023). Berdasarkan analisis ekspresi gen, terdapat asosiasi gen CMO dengan toleransi kekeringan pada varietas komersial kelapa sawit (Suraninpong et al., 2023).

APLIKASI MOLEKULER PADA ANALISIS SIDIK JARI DNA

Salah satu fungsi analisis sidik jari DNA adalah untuk membantu program pemuliaan tanaman dalam mengidentifikasi jalur metabolismik kelapa sawit yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang (Nurazah et al., 2021). Aplikasi teknik sidik jari DNA juga dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan pada spesies *Ganoderma boninense* pada perkebunan kelapa sawit di Malaysia (Midot et al., 2019) dan material genetik kultur jaringan (Simamora et al., 2022; Wening et al., 2020). Salah satu teknik analisis sidik jari DNA adalah menggunakan fragmen runutan basa berulang pada daerah intron kromosom tanaman, seperti *Simple Sequence Repeats* (SSR). Aplikasi teknik molekuler SSR pada analisis sidik jari DNA banyak digunakan pada tanaman sorgum (Kale et al., 2023), kedelai (Kumar et al., 2022), kastanya (Bai et al., 2023), teh (Yan et al., 2022), kapas (Kuang et al., 2022), dan kelapa sawit (Sarimana et al., 2021).

Analisis sidik jari DNA banyak dimanfaatkan untuk mendapatkan informasi dasar tanaman kelapa sawit maupun tanaman lainnya. Prinsip dari analisis sidik jari DNA adalah penggunaan informasi dari polimorfisme alel-alel yang dideteksi oleh penanda DNA yang mampu membedakan pola unik dari setiap individu tanaman. Perbedaan tersebut dimanfaatkan untuk analisis lanjutan, seperti keragaman dan kekerabatan genetik, keterpautan dengan sifat fenotipe tertentu, legitimasi progeni dengan tetuanya, dan identifikasi material genetik hasil perbanyakan vegetatif tanaman. Tahap lanjut dari analisis DNA antara lain menggunakan marka molekuler DNA dapat diaplikasikan untuk seleksi tanaman menggunakan metode MAS pada program MAB pemuliaan tanaman.

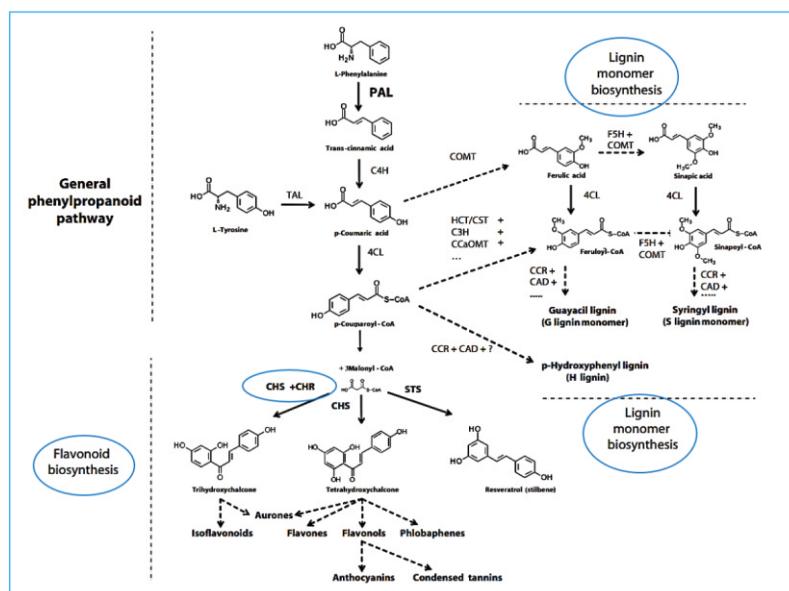
Seleksi tanaman dari generasi ke generasi setelah persilangan tetua terpilih untuk mendapatkan tanaman elit atau terpilih membutuhkan tools yang efektif dan efisien. Metode MAS menjadi salah satu tools tersebut untuk menyeleksi dan memilih individu atau populasi yang akan dilanjutkan untuk tahap selanjutnya pada program pemuliaan tanaman. Metode seleksi MAS menjadi sangat efektif karena pemilihan karakter yang diinginkan pemulia dapat dipilih secara genetik berdasarkan marka DNA/RNA. Seleksi secara genetik memiliki karakter yang tidak mudah dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga dengan penanda molekuler sebagai tools seleksi akan menghasilkan individu atau populasi yang secara genetik tidak berpengaruh oleh perubahan lingkungan. Selain itu juga, proses seleksi yang cepat dan akurat menjadi keunggulan dari program MAB karena pengujian dapat dilakukan secara masal dan tidak bergantung dengan waktu dan kondisi pengamatan.

Penggabungan metode pemuliaan konvensional dan teknologi *omics* juga menjadi strategi percepatan program pemuliaan tanaman kelapa sawit. Analisis molekuler menggunakan teknologi *omics* termasuk genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik menjadi hal yang sangat penting untuk mendukung program pemuliaan kelapa sawit saat ini. Kemajuan biomolekuler dan bioinformatika menjadi perpaduan yang komprehensif, seperti yang diuraikan oleh Xu et

al. tentang perspektif *multi-omics* dan potensi referensi pada tahap lanjut penelitian kelapa sawit (Xu et al., 2024).

APLIKASI MOLEKULER PADA SELEKSI TANAMAN TAHAN PENYAKIT *Ganoderma boninense*

Marka molekuler dapat diaplikasikan untuk seleksi tanaman kelapa sawit tahan penyakit *Ganoderma* atau busuk pangkal batang (BPB) (Khoo & Chong, 2023). Prinsip dari metode seleksi tersebut adalah penggunaan sekuen fragmen DNA/RNA pada gen-gen tertentu untuk membedakan alel-alel yang berbeda ukuran dan polanya pada tanaman tahan dan rentan penyakit *Ganoderma*. Perbedaan alel antara tanaman tahan dan rentan penyakit busuk pangkal batang tersebut yang menjadi poin penting untuk mengetahui efektifitas dari desain marka yang diperoleh. Perkembangan metode molekuler untuk mendapatkan gen-gen yang berperan dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap infeksi *Ganoderma* menjadi hal yang menarik dan terus berkembang. Penelitian yang telah dilakukan adalah mendapatkan gen yang stabil ekpresinya pada berbagai level infeksi penyakit BPB (Permatasari et al., 2023; Zuhar et al., 2021). Terdapat 7 gen potensial yang up-regulated berperan pada fase infeksi awal dan akhir penyakit *Ganoderma* (Zuhar et al., 2019).



Gambar 3. Posisi dan peran gen chalcone synthase (CHS) pada jalur biosintesis lignin (Emiliani et al., 2009).

Diantara 7 gen tersebut, chalcone synthase (CHS, EC 2.3.1.74, XLOC_016957) merupakan *up-regulated gene* yang berperan pada semua fase awal, tengah, dan akhir infeksi Ganoderma (Dao et al., 2011). Gen tersebut memiliki fungsi biologis dalam pada jalur *systemic acquired resistance* (SAR) untuk melindungi tanaman dan sistem pertahanan yang kuat dari tanaman terhadap infeksi patogen. Selain itu, gen CHS merupakan enzim yang utama pada jalur biosintesis flavonoid/isoplavonoid dan terlibat dalam jalur asam salisilat yang menginduksi respon hipersensitif dan SAR (Dao et al., 2011). Hasil akhir dari biosintesis flavonoid adalah biosintesis lignin monomer (Emiliani et al., 2009; Ho et al., 2019). Lignin pada akar kelapa sawit berperan penting dalam sistem pertahanan kelapa sawit terhadap infeksi *G. boninense* (Faizah et al., 2022).

APLIKASI MOLEKULER PADA REKAYASA GENETIKA

Rekayasa genetika pada prinsipnya adalah memasukkan gen tertentu yang telah diketahui sebagai pembawa karakter tertentu ke dalam sel target. Teknik memasukkan gen tertentu dapat dilakukan dengan cara *particle bombardment* atau *Agrobacterium* sp. sebagai media transformasi. *Particle bombardment* dilakukan dengan bantuan kejutan listrik dan gas hidrogen, sedangkan *Agrobacterium* sp. digunakan sebagai media transformasi alami (John Martin et al., 2022).

Perkembangan pemuliaan kelapa sawit terus berlangsung untuk mendapatkan varietas kelapa sawit yang sesuai dengan kebutuhan pasar. Perkembangan vektor transformasi untuk produksi kelapa sawit transgenik yang memiliki kandungan oleat yang tinggi telah dilakukan di Malaysia (Masani et al., 2018). Transformasi vektor merupakan salah satu syarat untuk manipulasi genetik kelapa sawit melalui teknologi rekombinasi DNA. Konstruksi serangkaian vektor transformasi yang memiliki *maize ubiquitin promoter* (UbiPro) dikendalikan oleh sebuah gen untuk seleksi transforman pada herbisida (Basta atau Bialaphos), dan promoter Mesokarp-spesifik (MSP1) untuk ekspresi transgen [antisense palmitoil-ACPthioesterase (PAT) (Meng et al., 2018), sense β -ketoacyl-ACP-sintase II (KASII), dan sense $\Delta 9$ -stearoyl-ACP-desaturase (SAD)] yang bertanggung jawab terhadap oleat yang tinggi dalam mesokarp

kelapa sawit. Vektor transformasi ini cocok digunakan baik dalam pembuatan partikel *bombardment (biolistic)* maupun *Agrobacterium*-berdasarkan protokol transformasi (Masani et al., 2018).

Transformasi genetik kelapa sawit telah dilakukan dengan berbagai teknik, seperti produksi bioplastik pada *Arabidopsis thaliana* (van Beilen & Poirier, 2011), biolistik dan *Agrobacterium* sebagai media transformasi untuk resistensi penyakit *Ganoderma* (Hanin et al., 2020). Teknik bioplastik pernah dilakukan pada kelapa sawit untuk transformasi genetik, karena secara alami proses metabolism asam lemak mengandung acetyl-CoA yang tinggi (Kocharin et al., 2012), sebagai prekursor sistesis polihidroksibutirat (PHB). Jalur (*pathway*) metabolisme asam lemak pada kelapa sawit dapat dimodifikasi dengan mengintroduksi gen *phb* yang diisolasi dari *Ralstonia eutropha* ke genom kelapa sawit (Nawrath et al., 1995).

APLIKASI MOLEKULER PADA KULTUR JARINGAN

Abnormalitas seringkali terjadi pada bibit kelapa sawit hasil kultur jaringan. Abnormalitas pembungaan atau yang disebut bunga mantel (*mantled*) adalah fenomena bunga kelapa sawit dengan stamen dan staminodes yang berubah menjadi struktur daun buah semu. Karakter bunga mantel merupakan karakter yang bersifat epigenetik dan berhubungan dengan metilasi DNA (Kaplun et al., 2022). Epigenetik adalah proses ekspresi genetik pada suatu individu yang tidak melibatkan sekuen DNA atau ekspresi gen suatu individu sehingga menjadi tidak sesuai dengan perintah genotipe yang seharusnya terjadi (Kaplun et al., 2022; Mattei et al., 2022).

Peristiwa metilasi DNA adalah bagian dari perkembangan sel dan terwariskan melalui pembelahan sel. Biasanya, gugus-gugus metil akan disisihkan pada pembentukan zigot namun prosesnya berangsur-angsur berlangsung kembali selama tahap perkembangan. Berdasarkan material genetik yang berperan pada metilasi DNA, nukleotida merupakan awal mula terjadinya proses metilasi DNA dalam regulasi gen. Selanjutnya dengan modifikasi histon dan potensi adanya regulasi transposom akan mempengaruhi promotor yang berperan sebelum proses transkripsi gen. Transkripsi gen inilah yang menjadi langkah awal dalam proses ekspresi gen.

Gen-gen yang mengendalikan ekspresi bunga

mantel hasil kultur jaringan kelapa sawit antara lain gen EgDEF1 dan EgGLO1 (Ooi et al., 2019). Kedua gen tersebut merupakan gen pengatur pembungaan dengan penurunan ekspresi pada bunga jantan abnormal atau *pseudocarpel initials* (Ooi et al., 2019). Berdasarkan mikrodiseksi menggunakan laser dan pengurutan RNA diperoleh data transkriptomik spesifik bunga jantan abnormal *mantled* menunjukkan *differentially expressed genes* (DEGs) lebih tinggi dibandingkan bunga jantan normal. Selain itu, transkriptomik bunga jantan abnormal *mantled* memiliki kemiripan dengan bunga betina abnormal *mantled* (Ooi et al., 2019). Perkembangan bunga abnormal *mantled* berasosiasi dengan indikator cekaman lingkungan yang mampu mempengaruhi perubahan fenotipe kepala sari dan benang sari pada bunga jantan kelapa sawit (Adam et al., 2005).

Berdasarkan perspektif sejarah pada tanaman, mikroorganisme, dan hewan, uraian secara umum mengenai pola metilasi DNA adalah sebagai berikut (Mattei et al., 2022): 1) Metilasi terlibat dalam proses fisiologis pada pembungaan di *Arabidopsis thaliana*; 2) metilasi pada *A. thaliana* dapat dipulihkan secara perlahan dengan persilangan antara alel *AtDDM1* × *AtMET1*, meskipun terdapat potensi demetilasi dapat menghasilkan ekspresi abnormal; 3) metilasi DNA mampu mengubah organisasi dan aksestabilitas kromatin serta mempengaruhi pengikatan protein faktor transkripsi; 4) metilasi DNA dapat dimanfaatkan sebagai proses fisiologis dan fenotipe penyakit; 5) metilasi terjadi pada sel yang terdiferensiasi, tetapi tidak terjadi pada sel pluripotent; 6) metilasi DNA merupakan kandidat sekuen yang mengalami mutase untuk mengendalikan ekspresi gen secara *reversible*, dan 7) status metilasi gen berkorelasi negatif dengan ekspresi gen atau metilasi DNA bertindak sebagai penekanan ekspresi gen. Dengan demikian, variasi somaklonal buah mantel pada kelapa sawit diduga disebabkan oleh faktor epigenetik dan metilasi, namun faktor epigenetik lebih berpengaruh terhadap abnormalitas buah mantel kelapa sawit.

KESIMPULAN

Perkembangan bioteknologi dan aplikasi biologi molekuler sangat mendukung program pemuliaan tanaman untuk mendapatkan varietas unggul kelapa sawit. Metode *Marker Assisted Breeding* (MAB) dan *Marker Assisted Selection* (MAS) telah diaplikasikan

untuk mendeteksi variasi genetik pada kelapa sawit. Metode deteksi pada biologi molekuler berbasis DNA dan RNA juga sangat membantu pemulia untuk mengatasi permasalahan ketebalan cangkang, identifikasi gen yang terlibat pada cekaman biotik dan abiotik kelapa sawit, terutama toleransi kekeringan dan ketahanan terhadap *G. boninense*. Aplikasi rekayasa genetika antara lain transformasi karakter kandungan oleat tinggi dan introduksi gen *phb* dari *Ralstonia eutropa* ke genom kelapa sawit. Teknik analisis molekuler dapat digunakan untuk mendeteksi abnormalitas buah mantel. Kolaborasi transdisiplin ilmu yang terangkum pada program pemuliaan sangat mendukung percepatan perakitan varietas kelapa sawit produktivitas tinggi dan tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Aziz, M. H., Behiry, S. I., Younes, H. A., & Hamza, K. A. (2019). The relationship and relativity between three isolates of Potato virus Y Potyvirus infecting potato (*Solanum tuberosum L.*) at Alexandria and El-Beheira governorates, northern Egypt. *Novel Research in Microbiology Journal*, 3(4), 440–452. <https://doi.org/10.21608/nrmj.2019.44952>
- Adam, H., Jouannic, S., Escoute, J., Duval, Y., Verdeil, J. L., & Tregear, J. W. (2005). Reproductive developmental complexity in the African oil palm (*Elaeis guineensis*, Arecaceae). *American Journal of Botany*, 92(11), 1836–1852. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.11.1836>
- Aguilar-Benitez, D., Casimiro-Soriguer, I., & Torres, A. M. (2020). First approach to pod dehiscence in faba bean: genetic and histological analyses. *Scientific Reports*, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74750-1>
- Ahmar, S., Gill, R. A., Jung, K. H., Faheem, A., Qasim, M. U., Mubeen, M., & Zhou, W. (2020). Conventional and molecular techniques from simple breeding to speed breeding in crop plants: Recent advances and future outlook. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms21072590>
- Al-Amrani, S., Al-Jabri, Z., Al-Zaabi, A., Alshekaili, J., &

- Al-Khabori, M. (2021). Proteomics: Concepts and applications in human medicine. *World Journal of Biological Chemistry*, 12(5), 57–69. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v12.i5.57>
- Amiteye, S. (2021). Basic Concepts And Methodologies Of DNA Marker Systems In Plant Molecular Breeding. *Heliyon*, 7(10), e08093. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
- Babu, B. K., Mathur, R. K., Ravichandran, G., & Venu, M. V. B. (2019). Genome-wide association study (GWAS) for stem height increment in oil palm (*Elaeis guineensis*) germplasm using SNP markers. *Tree Genetics and Genomes*, 15(3). <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1349-2>
- Bai, X., Zhang, S., Wang, W., Chen, Y., Zhao, Y., Shi, F., & Zhu, C. (2023). Genetic Relationships of 118 Castanea Specific Germplasms and Construction of Their Molecular ID Based on Morphological Characteristics and SSR Markers. *Plants*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/plants12071438>
- Berry, A., & Browne, J. (2022). Mendel and Darwin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(30), 1–10. <https://doi.org/10.1073/pnas.2122144119>
- Bohry, D., Ramos, H. C. C., dos Santos, P. H. D., Boechat, M. S. B., Arêdes, F. A. S., Pirovani, A. A. V., & Pereira, M. G. (2021). Discovery of SNPs and InDels in papaya genotypes and its potential for marker assisted selection of fruit quality traits. *Scientific Reports*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79401-z>
- Dao, T. T. H., Linthorst, H. J. M., & Verpoorte, R. (2011). Chalcone synthase and its functions in plant resistance. *Phytochemistry Reviews*, 10(3), 397 – 412. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9211-7>
- Dewi, A. L., Paramita, D. K., & Faclirol, J. (2021). Development of Tetra-primer Amplification Refractory Mutation System (ARMS) PCR for Detection of CHRNA3 rs8040868. *Indonesian Biomedical Journal*, 13(2), 192–200. <https://doi.org/10.18585/inabj.v13i2.1463>
- Emiliani, G., Fondi, M., Fani, R., & Gribaldo, S. (2009).
- A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: A key adaptation of plants to land. *Biology Direct*, 4. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-7>
- Faizah, R., Putranto, R. A., Raharti, V. R., Supena, N., Sukma, D., Budiani, A., Wening, S., & Sudarsono, S. (2022). Defense response changes in roots of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings after internal symptoms of *Ganoderma boninense* Pat. infection. *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03493-0>
- Gan, S. T., Teo, C. J., Manirasa, S., Wong, W. C., & Wong, C. K. (2021). Assessment of genetic diversity and population structure of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) field genebank: A step towards molecular-assisted germplasm conservation. *PLoS ONE*, 16(7 July 2021), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255418>
- Gutiérrez, O. A., Puig, A. S., Phillips-Mora, W., Bailey, B. A., Ali, S. S., Mockaitis, K., Schnell, R. J., Livingstone, D., Mustiga, G., Royaert, S., & Motamayor, J. C. (2021). SNP markers associated with resistance to frosty pod and black pod rot diseases in an F1 population of *Theobroma cacao* L. *Tree Genetics and Genomes*, 17(3). <https://doi.org/10.1007/s11295-021-01507-w>
- Hanin, A. N., Parveez, G. K. A., Rasid, O. A., & Masani, M. Y. A. (2020). Biolistic-mediated oil palm transformation with alfalfa glucanase (AGLU1) and rice chitinase (RCH10) genes for increasing oil palm resistance towards *Ganoderma boninense*. *Industrial Crops and Products*, 144, 112008. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112008>
- Hasan, N., Choudhary, S., Naaz, N., Sharma, N., & Laskar, R. A. (2021). Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>
- Hatakeyama, D., Chikamoto, N., Fujimoto, K., Kitahashi, T., & Ito, E. (2022). Comparison between relative and absolute quantitative real-

- time PCR applied to single-cell analyses: Transcriptional levels in a key neuron for long-term memory in the pond snail. *PLoS ONE*, 17(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279017>
- Ho, C. L., Tan, Y. C., Yeoh, K. A., Lee, W. K., Ghazali, A. K., Yee, W. Y., & Hoh, C. C. (2019). Leaf transcriptome of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) infected by *Ganoderma boninense*. *Trees - Structure and Function*, 33(3), 943–950. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01830-9>
- Hutanu, A., Signori, C., Moritz, B., Gregoritza, M., Rohde, A., & Schwarz, M. A. (2023). Using Peptide Nucleic Acid Hybridization Probes for Qualitative and Quantitative Analysis of Nucleic Acid Therapeutics by Capillary Electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 95, 4914–4922. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04813>
- Jan, S., Bhat, M. A., Wani, M. A., Bhat, F. A., Kanth, R. H., Hussain, S., . N.-A., Manzoor, T., & Ishaq, M. (2023). Gene Identification and Marker Assisted Selection for Introgression of important traits in barley. *Journal of Cereal Research*, 15(1), 14–23. <https://doi.org/10.25174/2582-2675/2023/126823>
- John Martin, J. J., Yarra, R., Wei, L., & Cao, H. (2022). Oil Palm Breeding in the Modern Era: Challenges and Opportunities. *Plants*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/plants11111395>
- Kale, S. S., Chavan, N. R., Chavan, N., & Kore, G. V. (2023). Genetic diversity analysis in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)] genotypes by using SSR markers. *The Pharma Innovation*, 12(4), 1359–1364.
- Kaplun, D. S., Kaluzhny, D. N., Prokhortchouk, E. B., & Zhenilo, S. V. (2022). DNA Methylation: Genomewide Distribution, Regulatory Mechanism and Therapy Target. In *Acta Naturae* (Vol. 14, Issues 4–55, pp. 4–19). *Acta Naturae*. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11822>
- Khoo, Y. W., & Chong, K. P. (2023). *Ganoderma boninense*: general characteristics of pathogenicity and methods of control. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1156869>
- Kocharin, K., Chen, Y., Siewers, V., & Nielsen, J. (2012). Engineering of acetyl-CoA metabolism for the improved production of polyhydroxybutyrate in *Saccharomyces cerevisiae*. *AMB Express*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-52>
- Kongsuphol, P., Jia, H., Cheng, H. L., Gu, Y., Shunmuganathan, B. D., Chen, M. W., Lim, S. M., Ng, S. Y., Tambyah, P. A., Nasir, H., Gao, X., Tay, D., Kim, S., Gupta, R., Qian, X., Kozma, M. M., Purushotman, K., McBee, M. E., MacAry, P. A., ... Preiser, P. R. (2021). A rapid simple point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Communications Medicine*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s43856-021-00045-9>
- Kuang, Z., Xiao, C., Ilyas, M. K., Ibrar, D., Khan, S., Guo, L., Wang, W., Wang, B., Huang, H., Li, Y., Li, Y., Zheng, J., Saleem, S., Tahir, A., Ghafoor, A., & Chen, H. (2022). Use of SSR Markers for the Exploration of Genetic Diversity and DNA Finger-Printing in Early-Maturing Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) for Future Breeding Program. *Agronomy*, 12(7), 1–14. <https://doi.org/10.3390/agronomy12071513>
- Kumar, S. P. J., Susmita, C., Sripathy, K. V., Agarwal, D. K., Pal, G., Singh, A. N., Kumar, S., Rai, A. K., & Simal-Gandara, J. (2022). Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers. *Molecular Biology Reports*, 49(3), 2129–2140. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07030-4>
- Lagos-Kutz, D. M., Pawlowski, M. L., Han, J., Clough, S. J., & Hartman, G. L. (2023). Reduction in productivity of soybean plants infested with *Neohydatothrips variabilis* (Thysanoptera: Thripidae) with and without soybean vein necrosis virus. *Phytoparasitica*, 51(3), 437–445. <https://doi.org/10.1007/s12600-023-01070-1>
- Leão, A. P., Filho, J. A. F., Pereira, V. M., Alves, A. A., & Júnior, M. T. S. (2022). Genomic Characterization of SNPs for Genetic Differentiation and Selection in Populations from the American Oil Palm. *Diversity*, 14(270), 1 – 2.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/d14040270>
- Lin, H., Zhou, H., Gao, L., Li, B., He, K., & Fan, H. (2018). Development and application of an indirect ELISA for the detection of antibodies to porcine epidemic diarrhea virus based on a recombinant spike protein. *BMC Veterinary Research*, 14, 243. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1570-5>
- Liu, J. J., Sniezko, R. A., Sissons, R., Krakowski, J., Alger, G., Schoettle, A. W., Williams, H., Zamany, A., Zitomer, R. A., & Kegley, A. (2020). Association Mapping and Development of Marker-Assisted Selection Tools for the Resistance to White Pine Blister Rust in the Alberta Limber Pine Populations. *Frontiers in Plant Science*, 11(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.557672>
- Luo, Y., Zhang, X., Xu, J., Zheng, Y., Pu, S., Duan, Z., Li, Z., Liu, G., Chen, J., & Wang, Z. (2020). Phenotypic and molecular marker analysis uncovers the genetic diversity of the grass *Stenotaphrum secundatum*. *BMC Genetics*, 21(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00892-w>
- Manjeri, G., Muhamad, R., Faridah, Q. Z., & Tan, S. G. (2011). Genetic variation studies in *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae) from oil palm plantations using random amplified microsatellite (RAMs) markers. *African Journal of Biotechnology*, 10(14), 2611 – 2617. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1537>
- Masani, M. Y. A., Izawati, A. M. D., Rasid, O. A., & Parvez, G. K. A. (2018). Biotechnology of oil palm: Current status of oil palm genetic transformation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 335 – 347. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.008>
- Mattei, A. L., Bailly, N., & Meissner, A. (2022). DNA methylation: a historical perspective. In *Trends in Genetics* (Vol. 38, Issue 7, pp. 676–707). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.03.010>
- Meng, Q., Gupta, R., Kwon, S. J., Wang, Y., Agrawal, G. K., Rakwal, R., Park, S. R., & Kim, S. T. (2018). Transcriptomic analysis of *Oryza sativa* leaves reveals key changes in response to *Magnaporthe oryzae* MSP1. *Plant Pathology Journal*, 34 (4), 257 – 268. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.01.2018.0008>
- Midot, F., Lau, S. Y. L., Wong, W. C., Tung, H. J., Yap, M. L., Lo, M. L., Jee, M. S., Dom, S. P., & Melling, L. (2019). Genetic diversity and demographic history of *Ganoderma boninense* in oil palm plantations of Sarawak, Malaysia inferred from ITS regions. *Microorganisms*, 7(10), 1 – 17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100464>
- Nawrath, C., Poirier, Y., & Somerville, C. (1995). Plant polymers for biodegradable plastics: cellulose, starch and polyhydroxyalkanoates. In *Molecular Breeding* (Vol. 1).
- Nurazah, Z., Idris, A. S., Mohd Din, A., Manaf, M. A. A., Othman, A., & Ramli, U. S. (2021). Metabolite fingerprinting of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) root for the identification of altered metabolic pathways associated with basal stem rot (BSR) disease. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 115(April), 101647. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101647>
- Nyouma, A., Bell, J. M., Jacob, F., & Cros, D. (2019). From mass selection to genomic selection: one century of breeding for quantitative yield components of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Tree Genetics & Genomes*, 15(5), 69. <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1373-2>
- Ong, A. L., Teh, C. K., Kwong, Q. Bin, Tangaya, P., Appleton, D. R., Massawe, F., & Mayes, S. (2019). Linkage-based genome assembly improvement of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Scientific Reports*, 9(1), 1 – 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42989-y>
- Ooi, S. E., Sarpan, N., Abdul Aziz, N., Nuraziyan, A., & Ong-Abdullah, M. (2019). Differential expression of heat shock and floral regulatory genes in pseudocarpel initials of mantled female inflorescences from *Elaeis guineensis* Jacq. *Plant Reproduction*, 32(2), 167 – 179. <https://doi.org/10.1007/s00497-018-0350-5>
- Paul, S., Singh, S., Chakrabarti, A., Rudramurthy, S. M., & Ghosh, A. K. (2020). Selection and evaluation of appropriate reference genes for

- RT-qPCR based expression analysis in *Candida tropicalis* following azole treatment. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58744-7>
- Permatasari, G. W., Puspita, M., Kresnawaty, I., Mulyatni, A. S., Eris, D. D., Widiaastuti, H., Triyana, K., & Priyono. (2023). *Validation of Early Infection Markers for Ganoderma in Oil Palm at Three Endemic Ganoderma Locations Validasi Marker Infeksi Dini Ganoderma pada Kelapa Sawit di Tiga Lokasi Endemik Ganoderma*.
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P. T., & Hyvönen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: A review. *Plant Methods*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-6>
- QIU, Y. wen, FENG, Z., FU, M. ming, YUAN, X. han, LUO, C. chao, YU, Y. bo, FENG, Y. zhong, WEI, Q., & LI, F. lan. (2019). GsMAPK4, a positive regulator of soybean tolerance to salinity stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(2), 372–380. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)61957-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61957-4)
- Sarimana, U., Herrero, J., Erika, P., Indarto, N., Wendra, F., Santika, B., Ritter, E., Sembiring, Z., & Asmono, D. (2021). Analysis of genetic diversity and discrimination of oil palm dpx populations based on the origins of pisifera elite parents. *Breeding Science*, 71(2), 134–143. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.20043>
- Siddiqui, Y., Surendran, A., Paterson, R. R. M., Ali, A., & Ahmad, K. (2021). Current strategies and perspectives in detection and control of basal stem rot of oil palm. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.016>
- Simamora, A. N., Dinarti, D., Sudarsono, S., & Wening, S. (2022). 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. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 18(1), 81–88. <https://doi.org/10.30598/jbdp.2022.18.1.81>
- Singh, R., Ong-Abdullah, M., Low, E. T. L., Manaf, M. A. A., Rosli, R., Nookiah, R., Ooi, L. C. L., Ooi, S. E., Chan, K. L., Halim, M. A., Azizi, N., Nagappan, J., Bacher, B., Lakey, N., Smith, S. W., He, D., Hogan, M., Budiman, M. A., Lee, E. K., ... Sambanthamurthi, R. (2013). Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. *Nature*, 500(7462), 335–339. <https://doi.org/10.1038/nature12309>
- Suraninpong, P., Thongkhao, K., Azzeme, A. M., & Suksa-Ard, P. (2023). Monitoring Drought Tolerance in Oil Palm: Choline Monooxygenase as a Novel Molecular Marker. *Plants*, 12(17). <https://doi.org/10.3390/plants12173089>
- Teh, C. K., Lee, H. L., Abidin, H., Ong, A. L., Mayes, S., Chew, F. T., & Appleton, D. (2019). A practical genome-enabled legitimacy assay for oil palm breeding and seed production. *BMC Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2062-x>
- Teh, C. K., Ong, A. L., Mayes, S., Massawe, F., & Appleton, D. R. (2020). Major qtls for trunk height and correlated agronomic traits provide insights into multiple trait integration in oil palm breeding. *Genes*, 11(7), 1–15. <https://doi.org/10.3390/genes11070826>
- Teng, S., Khong, K. W., & Che Ha, N. (2020). Palm oil and its environmental impacts: A big data analytics study. *Journal of Cleaner Production*, 274, 122901. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122901>
- van Beilen, J. B., & Poirier, Y. (2011). Plants as factories for bioplastics and other novel biomaterials. In *Plant Biotechnology and Agriculture: Prospects for the 21st Century* (pp. 481–494). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381466-1.00030-4>
- Weckx, S., Inzé, D., & Maene, L. (2019). Tissue culture of oil palm: Finding the balance between mass propagation and somaclonal variation. *Frontiers in Plant Science*, 10(June). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00722>
- Wei, L., John Martin, J. J., Zhang, H., Zhang, R., & Cao, H. (2021). Problems and prospects of improving abiotic stress tolerance and pathogen resistance of oil palm. *Plants*, 10(12),

- 1–16. <https://doi.org/10.3390/plants10122622>
- Wening, S., Pratiwi, D. R., Nazri, E., Ernayunita, E., & Rahmadi, H. Y. (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>
- Xu, W., John Martin, J. J., Li, X., Liu, X., Zhang, R., Hou, M., Cao, H., & Cheng, S. (2024). Unveiling the Secrets of Oil Palm Genetics: A Look into Omics Research. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 16). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25168625>
- Yan, H., Qi, H., Li, Y., Wu, Y., Wang, Y., Chen, J., & Yu, J. (2022). Assessment of the Genetic Relationship and Population Structure in Oil-Tea Camellia Species Using Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *Genes*, 13(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/genes13112162>
- Yarra, R., Jin, L., Zhao, Z., & Cao, H. (2019). Progress in tissue culture and genetic transformation of oil palm: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5353), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms20215353>
- Yu, Z., Fredua-Agyeman, R., Hwang, S. F., & Strelkov, S. E. (2021). Molecular genetic diversity and population structure analyses of rutabaga accessions from Nordic countries as revealed by single nucleotide polymorphism markers. *BMC Genomics*, 22 (1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07762-4>
- Zhao, F., Maren, N. A., Kosentka, P. Z., Liao, Y. Y., Lu, H., Duduit, J. R., Huang, D., Ashrafi, H., Zhao, T., Huerta, A. I., Ranney, T. G., & Liu, W. (2021). An optimized protocol for stepwise optimization of real-time RT-PCR analysis. *Horticulture Research*, 8(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00616-w>
- Zhou, L., Yarra, R., Cao, H., & Zhao, Z. (2021). Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers Based Genetic Diversity and Population Structure Analysis of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Tropical Plant Biology*, 14 (1), 63 – 71. <https://doi.org/10.1007/s12042-020-09273-0>
- Zuhar, L. M., Madihah, A. Z., Ahmad, S. A., Zainal, Z., Idris, A. S., & Shaharuddin, N. A. (2019). Determination of reference genes for normalisation of gene expression study of Ganoderma-infected oil palms. *Journal of Oil Palm Research*, 31(December), 550–560. <https://doi.org/10.21894/jopr.2019.0051>
- Zuhar, L. M., Madihah, A. Z., Ahmad, S. A., Zainal, Z., Idris, A. S., & Shaharuddin, N. A. (2021). Identification of oil palm's consistently upregulated genes during early infections of ganoderma boninense via rna-seq technology and real-time quantitative pcr. *Plants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102026>

