

**PROFILING AKUMULASI TRANSKRIP GEN PADA AKAR BIBIT KELAPA SAWIT  
(*Elaeis guineensis* JACQ.) RENTAN DAN TOLERAN TERHADAP  
*Ganoderma boninense***

***Transcript accumulation profiling in susceptible and tolerant juvenile oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) roots against *Ganoderma boninense****

**Riza-Arief Putranto<sup>1,5,\*</sup>, Rokhana Faizah<sup>2,4</sup>, Dini Astika Sari<sup>1</sup>, Vivi Restu Raharti<sup>3</sup>, Irfan Martiansyah<sup>1</sup>, Sapto Nugroho Hadi<sup>3</sup>, Sri Wening<sup>2</sup>, Priyono<sup>1</sup>, dan Asmini Budiani<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>) Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI).

Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor 16128;

<sup>2</sup>) Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS).

Jl. Brigjen Katamso No. 51 Kampung Baru, Medan 20158;

<sup>3</sup>) Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.

Jl. DR. Soeparno, Purwokerto Utara 53122;

<sup>4</sup>) Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB University Bogor. Jl. Meranti, Kampus Dramaga, Bogor 16680;

<sup>5</sup>) PT Riset Perkebunan Nusantara, Jl. Salak No 1A, Bogor 16128.

Alamat Korespondensi: \*rizaputranto@iribb.org; asminib@yahoo.com

**ABSTRAK**

Dalam penelitian ini, analisis akumulasi transkrip menggunakan *Reverse-Transcriptase Quantitative PCR* (RT-qPCR) diikuti dengan analisis interaksi statistik telah dilakukan pada akar dari dua genotipe tanaman kelapa sawit (A09 dan 23) yang rentan dan toleran terhadap *Ganoderma boninense*. Tiga gen putatif (*Eg#001*, *Eg#004*, dan *Eg#007*) dari kelapa sawit diprediksi dapat digunakan sebagai biomarker dalam seleksi varietas tanaman kelapa sawit terhadap *Ganoderma*. Optimasi analisis RT-qPCR dilakukan dengan melakukan serial dilusi cDNA (1/5, 1/10, 1/25 dan 1/50) untuk mendapatkan nilai *amplification plot* dan *melting curve* yang ideal. Hasil analisis memperlihatkan serial dilusi 1/10 atau setara konsentrasi cDNA 50 ng/μL mendapatkan nilai *Ct* pada ambang 22-24 serta nilai *melting curve* sebesar 83,06. Secara umum, akumulasi transkrip gen pada genotipe 23 lebih melimpah dibandingkan dengan genotipe A09. Gen *Eg#007* secara statistik memiliki akumulasi transkrip yang berbeda nyata pada genotipe 23 yang lebih tinggi (5,21E+00) dibandingkan pada genotipe A09 (1,93E+00). Di sisi lain, hasil identifikasi lokus ID pada genom kelapa sawit memperlihatkan bahwa gen *Eg#007* merupakan penyandi protein yang tergolong dalam famili sulfotransferase (SOT) yang terkait dengan sistem pertahanan tanaman. Gen tersebut berpotensi mengungkap mekanisme aksi-reaksi antara *G. boninense* dan akar kelapa sawit.

Kata kunci: kelapa sawit, *Ganoderma*, profil akumulasi transkrip, RT-qPCR, biomarker.

**ABSTRACT**

*In this study, analysis of transcript accumulations using Reverse-Transcriptase Quantitative PCR (RT-qPCR) followed by statistical interactions has been carried out on two contrasted genotypes of oil palm roots (A09 and 23) that are susceptible and tolerant against Ganoderma boninense. Three putative genes (Eg#001, Eg#004, and Eg#007) from oil palm are predicted to be used as biomarkers in the selection of oil palm varieties against Ganoderma. Optimization of RT-qPCR analysis was carried out by performing serial cDNA dilutions (1/5, 1/10, 1/25 and 1/50) to obtain the ideal amplification plot and melting curve values. The results of the analysis showed a dilution serial of 1/10 or equivalent concentration of 50 ng/μL cDNA resulted in a Ct value at the threshold of 22-24 and a melting curve of 83.06. In general, the accumulation of gene transcripts in genotype 23 is more abundant compared to the genotype A09. The gene Eg#007 had a significantly different accumulation of transcripts in the genotype 23 (5.21E + 00) compared to the genotype A09 (1.93E + 00). On the other hand, the identification of locus ID in the oil palm genome showed that the gene Eg#007 encoded a protein belonging to the sulfotransferase (SOT) family associated with plant defense systems. The gene has the potential to reveal the mechanism of action-reaction between G. boninense and oil palm roots.*

Keywords: oil palm, *Ganoderma*, transcript accumulation profile, RT-qPCR, biomarker.

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas perkebunan yang strategis di Indonesia. Peranannya sangat besar dalam mendorong perekonomian terutama perkebunan rakyat. Hal ini dikarenakan kelapa sawit merupakan salah satu komoditas yang memiliki peran besar dalam menghasilkan pendapatan asli daerah, produk domestik bruto, dan kesejahteraan masyarakat (Siradjuddin, 2015). Menurut GAPKI (2019) hingga per Agustus 2019, produktivitas kelapa sawit mencapai 34,94 juta ton dengan kenaikan hingga 13,9 % dibandingkan 2018. Namun, infeksi *Ganoderma boninense* mampu menyebabkan industri kelapa sawit mengalami kerugian yang tinggi hingga mencapai 80%.

Penyakit busuk pangkal batang (BPB) disebabkan oleh cendawan *Ganoderma boninense* (Kresnawaty *et al.*, 2017). Distribusi penyakit ini sudah menyebar luas di Indonesia dan menyebabkan kerugian besar pada perkebunan kelapa sawit (Susanto *et al.*, 2013). Saat ini, cendawan ini tidak hanya menyerang kelapa sawit yang tua tetapi juga kelapa sawit muda, sehingga semakin berbahaya untuk areal perkebunan kelapa sawit berkelanjutan (Purnamasari *et al.*, 2012). *Ganoderma* berkolonisasi pada akar kelapa sawit dan memproduksi enzim hidrolitik dan oksidatif yang dapat mendegradasi jaringan pada

batang (Putranto *et al.*, 2016). Gejala penyakit ini sulit dideteksi karena perkembangannya sangat lambat dan tanda gejala infeksi yang mudah diketahui adalah terbentuknya tubuh buah *Ganoderma* pada batang atau pangkal batang kelapa sawit. Akar yang terserang *G. boninense* memperlihatkan jaringan korteks menjadi berwarna putih hingga coklat dan pada serangan lanjut jaringan menjadi rapuh dan pohon mudah tumbang (Susanto *et al.*, 2013).

Gejala pada tanaman sakit berhubungan dengan mekanisme molekuler terkait dengan respon tanaman terhadap infeksi patogen (Verica *et al.*, 2003, Wagner *et al.*, 2002), pengaruh biologis (Baek *et al.*, 2010), dan biosintesis hormon (Qin *et al.*, 2007). Mekanisme molekuler tersebut diekspresikan oleh gen-gen yang terlibat dalam interaksi dengan patogen *Ganoderma*. Respon molekuler kelapa sawit yang terkait dengan *G. boninense* merupakan suatu hal yang penting untuk pengembangan metode deteksi dini penyakit BPB (Putranto *et al.*, 2016). Respon ini berkaitan dengan gen yang terlibat dalam pertahanan diri kelapa sawit ketika terserang *G. boninense*, sehingga untuk mengetahuinya analisis ekspresi gen perlu dilakukan.

*Reverse-Transcriptase Quantitative PCR* (RT-qPCR) merupakan salah satu metode untuk studi ekspresi gen secara

tepat dan cepat (Ginzinger, 2002, Udvardi *et al.*, 2008). Metode ini sudah digunakan secara luas untuk mengukur perubahan pada tingkat transkrip gen (mRNA), karena deteksi ini memiliki kepekaan yang tinggi (Bahari *et al.*, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat ekspresi tiga gen putatif (*Eg#001*, *Eg#004*, dan *Eg#007*) pada dua genotipe tanaman kelapa sawit rentan dan toleran terhadap serangan *G. boninense*. Profil ekspresi gen spesifik pada tanaman kelapa sawit yang didapatkan dalam penelitian ini dalam jangka panjang diharapkan mampu digunakan untuk pengembangan biomarker terkait penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan bahan yaitu DNase I kit (Sigma-Aldrich), *SensiFAST SYBR Hi-Rox Kit* (Bioline Reagent Ltd.), NFW (*Nuclease Free Water*) (Invitrogen), alkohol dan es. Alat yang digunakan, antara lain *tube* (*Thermo Scientific*), kit *Cycle Script RT Premix* (dT20) (Bioneer, Inc.), *ESCO Thermocycle* (*Swift Maxi*), spektrofotometer nanodrop 2000 (*Thermo Scientific*), *96 wells plate* (*Applied Biosystems*), *micropipet* (*Thermo Scientific*), *tips* (*Axygen Scientific*), kertas parafilm, *box es*, *freezer* (GEA<sup>®</sup>), *Laminar*

*Air Flow* (*LAF Cabinet*), *waterbath* (Memmert), *StepOne Plus Real-time PCR Systems* (*Applied Biosystems*), dan *software Microsoft Excel*.

### **Lokasi Penelitian dan Bahan Tanaman**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI) Bogor, Jawa Barat (Latitude: -6.357847; Longitude: 107.929912). Penelitian dilaksanakan selama tiga (3) bulan dimulai dari bulan Oktober sampai dengan Desember 2018.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar kelapa sawit dari Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan (Latitude: 3.55644; Longitude: 98.688385) yang merupakan material genetik rentan dan toleran terhadap *G. boninense*. Kode genotipe A09 merupakan bibit kelapa sawit berumur yang 5-7 bulan dengan sifat kerentanan terhadap serangan *Ganoderma*. Kode genotipe 23 merupakan bibit kelapa sawit berumur 5-7 bulan dengan sifat ketahanan terhadap serangan *Ganoderma*. Kedua genotipe tersebut dipilih karena keduanya memiliki perbedaan signifikan di lapang pada ketahanan terhadap *G. boninense* yang dihitung berdasarkan Indeks Penyakit *Ganoderma* (IPG) (Faizah *et al.*, 2020).

### **Isolasi RNA dan Sintesis Utas Pertama cDNA**

Isolasi RNA telah dilakukan pada penelitian pendahuluan oleh Faizah *et al.* (2020) dan Putranto *et al.* (2016) dengan tiga ulangan biologis untuk masing-masing genotipe yang digunakan. RNA hasil isolasi tersebut dimanfaatkan untuk mengetahui perbedaan tingkat ekspresi gen tanaman kelapa sawit menggunakan 3 (tiga) primer penyandi gen yaitu *Eg#001* (F- GATTGTGGCTTTTGTGGAG; R- CTG AGGCTTCTGGCGTATTG), *Eg#004* (F- ACCATAGCTCCAGCAACCAC; R-CCA TGCAACCTTGTTTCTCA), dan *Eg#007* (F- AAAAGGCAAGGTGGGTGACT; R- TCATTCCACAAGACGAGCAA) serta 1 gen referensi *EgActin* (F- CCCACCTGACGGAAATACA; R- CGGATGGCA CCTCAGTCTTA) dengan masing-masing konsentrasi primer sebesar 10  $\mu$ M.

Sintesis utas pertama cDNA dilakukan menggunakan kit Bioneer Accu Power Cycle Script RT PreMix sesuai dengan protokol standar (Bioneer, Korea Selatan). Kualitas cDNA diperiksa untuk setiap sampel dengan amplifikasi PCR menggunakan primer *EgActin*. Analisis kuantitatif ekspresi gen dilakukan menggunakan mesin *StepOne Plus Real-time PCR Systems* (Applied Biosystems, AS). Serial dilusi cDNA yaitu 1/5, 1/10, 1/25, dan 1/50 dilakukan dalam rangka

mendapatkan cDNA dengan konsentrasi optimum untuk analisis RT-qPCR.

### **Analisis Kuantifikasi Transkrip dengan menggunakan RT-qPCR**

Analisis hasil RT-qPCR mengikuti metode *basic relative quantitation* yang dikembangkan oleh Pfaffl (2004). Akumulasi transkrip gen didasarkan pada nilai  $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$  yang didapatkan dari nilai rata-rata Ct gen target dan gen referensi (Pfaffl, 2004, Udvardi *et al.*, 2008). Analisis statistik dilakukan dengan metode ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan tes *Student Newman Keuls* (Putranto *et al.*, 2015a). Data akhir dari akumulasi transkrip atau ekspresi gen relatif ditampilkan dalam bentuk *heat map cluster* mengikuti metode yang dikembangkan oleh Putranto *et al.* (2014).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Tingkat Kemurnian dan Konsentrasi cDNA Akar Kelapa Sawit**

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan RT-qPCR adalah konsentrasi dan kemurnian cDNA yang digunakan. Menurut Sulistyaningsih (2007), konsentrasi cDNA yang terlalu rendah membuat primer tidak mampu mengamplifikasi sekuen target dan jika konsentrasi terlalu tinggi akan meningkatkan kemungkinan *mispriming*. Di sisi lain, kemurnian cDNA akan mempengaruhi akurasi hasil amplifikasi.

Tabel 1. Tingkat kemurnian dan konsentrasi RNA akar kelapa sawit dari dua genotipe uji. Data yang disajikan untuk masing-masing sampel merupakan rerata dari 3 (tiga) ulangan biologis

Sampel	$\lambda$ 260/280	$\lambda$ 260/230	Konsentrasi (ng/ $\mu$ L)
A09	2,14	1,34	143,4
23	1,80	1,63	108,0

Tabel 2. Tingkat kemurnian dan konsentrasi cDNA akar dari dua genotipe uji. Data yang disajikan untuk masing-masing sampel merupakan rerata dari 3 (tiga) ulangan biologis.

Sampel	$\lambda$ 260/280	$\lambda$ 260/230	Konsentrasi (ng/ $\mu$ L)
A09	1,84	2,39	460,8
23	1,75	2,82	490,7

Tingkat kemurnian dan konsentrasi cDNA ini bergantung pada RNA total hasil isolasi (Tabel 1). Kemurnian RNA dapat dilihat pada perbandingan  $\lambda$  260/280 dan  $\lambda$  260/230 (Tabel 1). Perbandingan  $\lambda$  260/280 yang didapatkan berkisar antara 1,8 sampai 2,1. Nilai tersebut menunjukkan kemurnian yang tinggi untuk kandungan RNA yang diperoleh. Pada penelitian ini, nilai  $\lambda$  260/230 diperoleh antara 1,3-1,6. Hal tersebut menunjukkan masih adanya kontaminan protein di dalam sampel RNA karena nilai di bawah 1,8-2,0 (Boyer, 1986). Meski demikian, konsentrasi yang didapatkan untuk masing-masing sampel dapat digunakan untuk analisis selanjutnya, yaitu dengan dengan konsentrasi >100 ng/ $\mu$ L, yang menunjukkan kelimpahan RNA yang berhasil diekstraksi.

Kemurnian cDNA pada perbandingan  $\lambda$  260/280 berkisar antara 1,7 - 1,8, sedangkan pada perbandingan  $\lambda$  260/230 antara 2,3 - 2,8 (Tabel 2). Konsentrasi cDNA yang didapatkan untuk tiap sampel

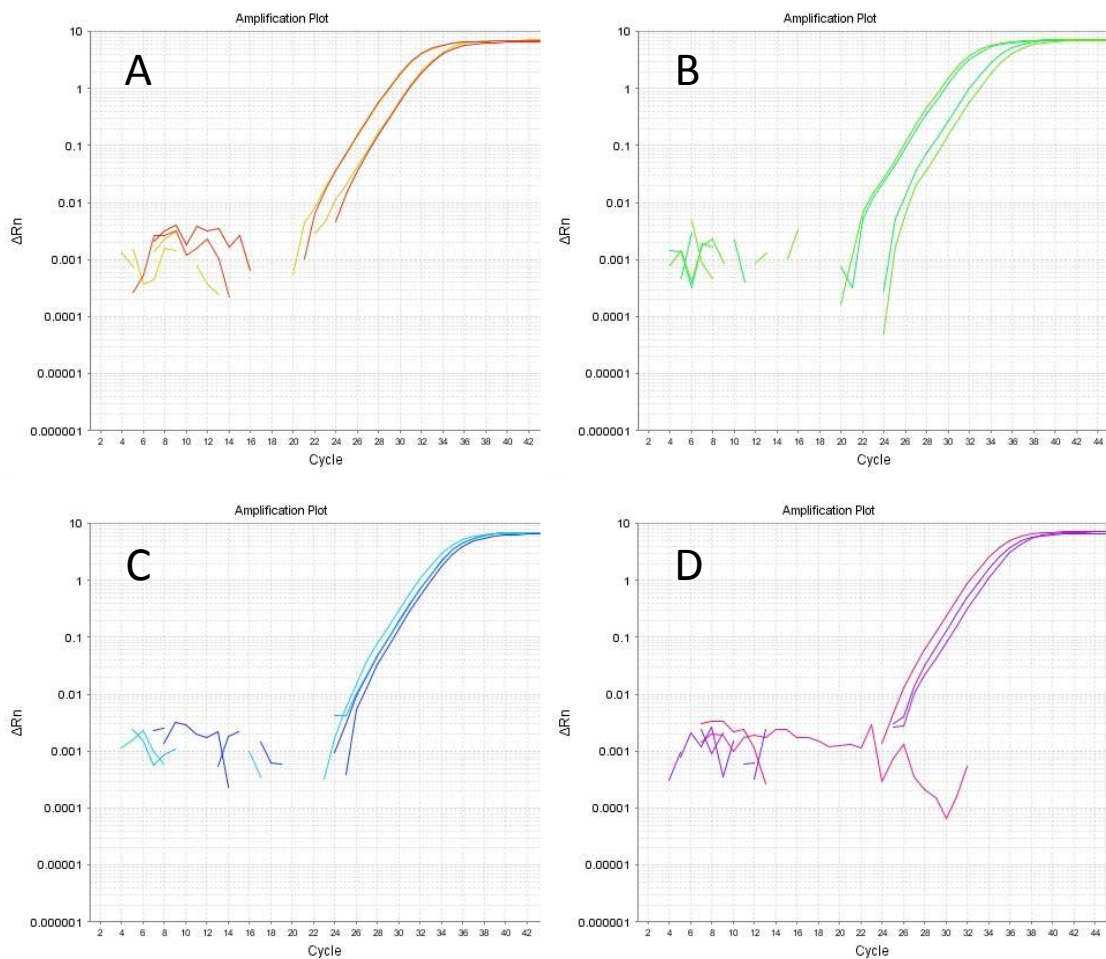
di atas 400 ng/ $\mu$ L. Menurut Budiani dan Marsa (2010), kemurnian RNA total dari bunga dan buah kelapa sawit berkisar antara 1,5 - 1,9 pada perbandingan  $\lambda$  260/280, sedangkan pada perbandingan  $\lambda$  260/230 berkisar antara 1,2 - 1,9. Kualitas RNA tersebut memadai untuk digunakan sebagai *template* dalam analisis semi-kuantitatif RT-PCR maupun RT-qPCR (Putranto *et al.*, 2015b). Oleh karena itu, kedua cDNA tersebut dapat digunakan untuk analisis akumulasi transkrip menggunakan metode RT-qPCR.

#### **Optimasi dan Validasi cDNA untuk RT-qPCR**

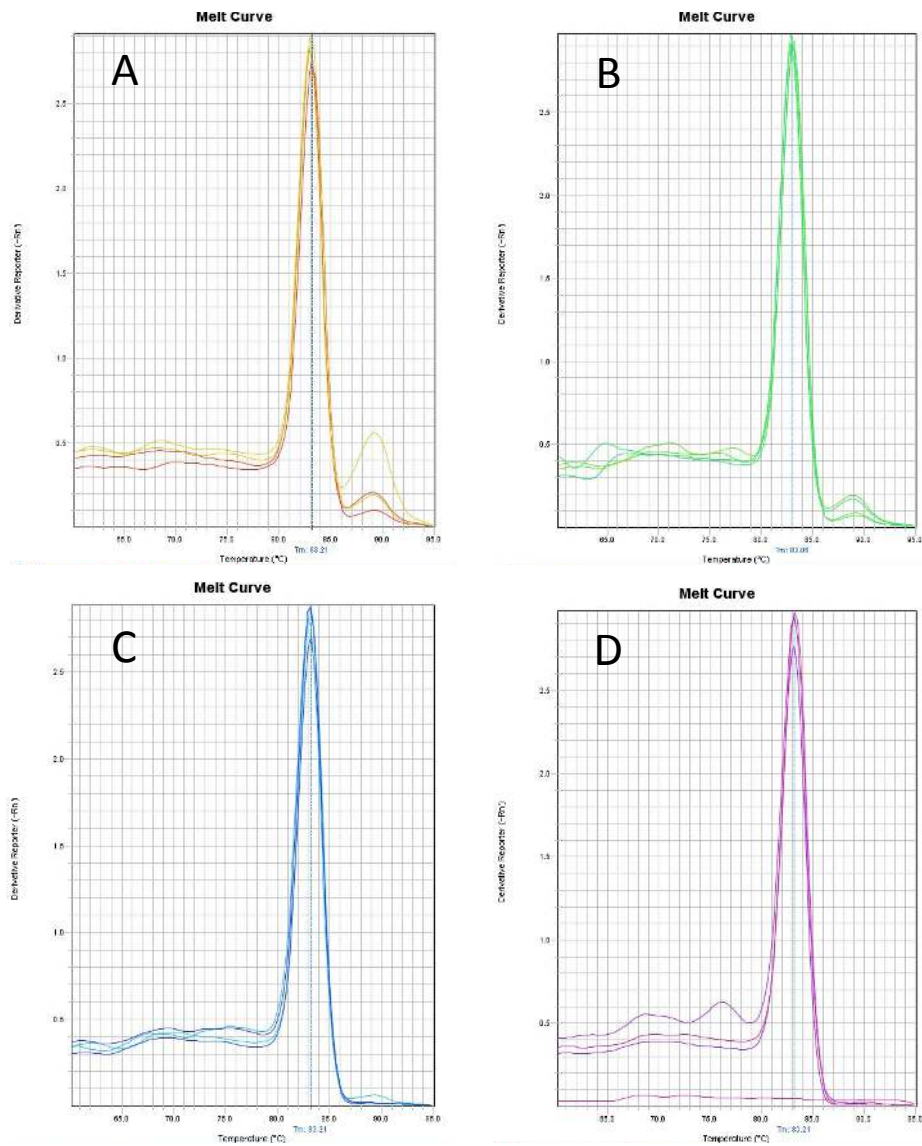
Data hasil RT-qPCR pada optimasi ini ditampilkan dalam bentuk *amplification plot* (Gambar 1) dan *melting curve* (Gambar 2). Berdasarkan pada kedua kurva ini, konsentrasi cDNA yang memberikan hasil optimum dapat diperoleh. Menurut Joko *et al.* (2011), optimasi metode PCR dilakukan untuk mengefisienkan waktu dan bahan, sehingga proses deteksi dapat dilakukan dengan cepat dan tepat. Reaksi PCR

dilakukan menggunakan serial dilusi dari untai tunggal cDNA sawit. Dilusi ini dilakukan untuk meminimalisir variasi antar pengujian (Giulietti *et al.*, 2001). Primer yang digunakan dalam reaksi ini adalah *EgActin*, karena termasuk dalam gen *housekeeping* yang ekspresinya stabil di berbagai jaringan pada semua tahapan perkembangan tanaman kelapa sawit (Putranto *et al.*, 2016). Gen *Actin* sangat penting dalam studi analisis ekspresi gen khususnya analisis ekspresi gen secara kuantitatif (Hannum *et al.*, 2011).

Data *amplification plot* menggambarkan siklus saat terjadinya akumulasi transkrip *EgActin* (Gambar 1). Keempat serial dilusi menunjukkan hasil yang beragam dan yang memberikan hasil optimum adalah pada 1/5 dan 1/10 berdasarkan pada *Cycle threshold* (Ct) yang diperoleh pada ambang 22-24 Ct. Menurut Azlina dan Chow (2011), amplifikasi untuk tiap sampel seharusnya tidak  $\geq 25$  siklus yang dapat mengindikasikan kontaminasi atau amplifikasi non-spesifik.



Gambar 1. *Amplification plot* serial dilusi cDNA sawit. (A) Konsentrasi 1/5, (B) Konsentrasi 1/10, (C) Konsentrasi 1/25, (D) Konsentrasi 1/50.



Gambar 2. *Melting curve* serial dilusi cDNA sawit. (A) Konsentrasi 1/5, (B) Konsentrasi 1/10, (C) Konsentrasi 1/25, (D) Konsentrasi 1/50.

Data *amplification plot* divalidasi dengan melihat *melting curve* yang dihasilkan (Gambar 2). *Melting temperature EgActin* yang dihasilkan berkisar antara 83,06 - 83,21. Nilai *melting temperature* terendah ditunjukkan oleh serial dilusi 1/10, yaitu sebesar 83,06 dan serial dilusi yang lain sebesar 83,21 (Gambar 2). Berdasarkan hal tersebut, maka serial dilusi yang memberikan hasil

optimum adalah 1/10. Selain itu tujuan dilakukan dilusi sampel adalah untuk menentukan jumlah minimal sampel yang menghasilkan nilai *Ct* yang baik (21-24 *Ct*), sehingga menghemat penggunaan sampel cDNA yang terbatas. Berdasarkan hasil uji serial dilusi cDNA tersebut, analisis RT-qCPR dalam penelitian ini menggunakan sampel dari serial dilusi 1/10 atau konsentrasi 50 ng/ $\mu$ L

### **Analisis Ekspresi Gen Spesifik terhadap *G. boninense***

Akumulasi transkrip dari 3 gen putatif (*Eg#001*, *Eg#004*, dan *Eg#007*) tanaman kelapa sawit yang terkait dengan *G. boninense* diukur pada genotipe A09 dan 23 (Gambar 3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga gen putatif tersebut memiliki tingkat ekspresi basal yang berbeda (diferensial) pada jaringan akar dari 2 genotipe tanaman kelapa sawit yang diuji.

Secara umum, akumulasi transkrip gen pada genotipe 23 lebih melimpah dibandingkan dengan genotipe A09. Gen *Eg#007* secara statistik memiliki akumulasi transkrip yang berbeda nyata pada genotipe 23 yang lebih tinggi ( $5,21E+00$ ) dibandingkan pada genotipe A09 ( $1,93E+00$ ). Di sisi lain, gen *Eg#004* memperlihatkan nilai akumulasi transkrip yang relatif sama di kedua genotipe uji. Begitu pula dengan gen *Eg#001* yang memperlihatkan kecenderungan sama meskipun nilai akumulasi transkripnya lebih rendah dibandingkan dengan gen *Eg#004*.

Hasil pencocokan lokus ID pada genom kelapa sawit yang telah dipublikasikan oleh Singh *et al.* (2013) memprediksi fungsi dari ketiga gen tersebut (Gambar 3). Gen *Eg#001* diprediksi terlibat dalam regulasi prokambium selama

perkembangan jaringan vaskular. Gen *Eg#004* merupakan gen yang terlibat dalam biosintesis etilen pada jaringan kelapa sawit. Di sisi lain, gen *Eg#007* merupakan penyandi protein yang mengkatalisasi transfer gugus sulfonat dari 3-fosfoadenosin 5-fosfosulfat (PAPS) pada substrat dan merupakan enzim yang terkait dengan pertahanan kimiawi.

Analisis akumulasi transkrip diikuti dengan analisis statistik menggunakan pendekatan ANOVA yang diikuti dengan tes Student Newman-Keuls (Gambar 4). Nilai ambang kepercayaan yang digunakan adalah 95%. Analisis statistik ini ditujukan untuk melihat interaksi antar genotipe dan apakah ekspresi gen yang diuji berbeda untuk tiap genotipe. Hasil analisis menunjukkan konfirmasi akan hasil *heat-map cluster* pada Gambar 3.

Gen *Eg#007* memiliki nilai *p-value* sebesar 0,046 yang menunjukkan adanya interaksi genotipe yang berlawanan saat gen *Eg#007* terekspresi. Sementara itu, gen *Eg#001* dan *Eg#004* memiliki nilai *p-value* sebesar masing-masing 0,556 dan 0,925 dimana nilai tersebut menunjukkan hasil tidak signifikan. Hal tersebut bermakna bahwa kedua gen *Eg#001* dan *Eg#004* tidak memperlihatkan ekspresi yang berbeda pada kedua genotipe yang berbeda secara respon terhadap *G. boninense*.



Nama gen	Genotipe		Lokus ID
	A09	23	
<b><i>Eg#001</i></b>	7,35E-01 <sup>a</sup>	1,02E+00 <sup>a</sup>	LOC105051778
<b><i>Eg#004</i></b>	5,16E+01 <sup>a</sup>	4,59E+01 <sup>a</sup>	LOC105035107
<b><i>Eg#007</i></b>	1,93E+00 <sup>a</sup>	5,21E+00 <sup>b</sup>	LOC105041070

Gambar 3. Ekspresi basal 3 gen putatif pada akar 2 genotipe kelapa sawit yang rentan dan toleran terhadap *G. boninense*. Akumulasi transkrip relatif diukur menggunakan RT-qPCR pada mesin StepOne Plus. Jumlah transkrip gen tinggi ditunjukkan oleh warna coklat gelap untuk nilai  $\geq 1$  hingga warna coklat terang untuk  $\leq E-04$ . Lokus ID menunjukkan posisi gen di dalam genom kelapa sawit (Singh *et al.*, 2013).

	<i>Eg#001</i>	<i>Eg#004</i>	<i>Eg#007</i>
<i>R</i> <sup>2</sup>	0,093	0,002	0,670
<i>F</i>	0,411	0,010	8,123
<i>p-value</i>	0,556	0,925	0,046*

Gambar 4. Analisis interaksi antar genotipe yang diuji (A09 dan 23) pada nilai akumulasi transkrip untuk ketiga gen (*Eg#001*, *Eg#004*, dan *Eg#007*). Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan metode ANOVA dilanjutkan tes Student Newman-Keuls dengan nilai kepercayaan 95%. Asterik menunjukkan nilai statistik *p-value* <0,05.

Akar merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran *G. boninense* melakukan kontak secara langsung selama menyerang tanaman kelapa sawit. Dalam penelitian ini, analisis akumulasi transkrip difokuskan pada jaringan akar kelapa sawit berusia 5-7 bulan yang rentan dan toleran terhadap *G. boninense*. Secara umum, hasil penelitian memperlihatkan secara signifikan bahwa gen putatif *Eg#007* memiliki potensi sebagai biomarker positif untuk pembeda varietas kelapa sawit yang rentan dan toleran terhadap *G. boninense*.

Semua gen anggota famili sulfotransferase (SOT), seperti gen *Eg#007*, telah ditemukan di banyak organisme hidup hingga saat ini baik tanaman, alga dan bakteri fototropik (Hernández-Sebastiá *et*

*al.*, 2008). Semua enzim ini mengkatalisis transfer grup asulfuril dari 3-fosfoadenosin 5-fosfosulfat (PAPS) ke gugus hidroksil yang sesuai, hidroksilamin atau amina berbagai jenis substrat dengan pembentukan PAP paralel (Hirschmann *et al.*, 2014). Famili SOT terlibat dalam berbagai mekanisme sel namun utamanya adalah terkait dengan detoksifikasi senyawa kimia yang membahayakan sel (Suiko *et al.*, 2017). Hipotesis tersebut berpotensi dikaitkan dengan interaksi antara senyawa yang dilepaskan *G. boninense* ke dalam sel akar kelapa sawit sebagai bentuk infeksi dari cendawan tersebut dengan respon balik ekspresi gen dari kelapa sawit. Gen dari famili SOT berpotensi terlibat dalam

regulasi negatif yaitu menahan infeksi akibat serangan *Ganoderma*.

Pendekatan molekuler seperti pemanfaatan marka menjadi suatu alternatif untuk mempercepat proses pemuliaan tanaman konvensional (Priyono & Putranto, 2014). Teknologi pemuliaan tanaman konvensional memiliki keterbatasan, salah satunya dalam proses melakukan seleksi sejumlah genotipe tanaman. Penggunaan marka molekuler dalam seleksi tanaman menjadi lebih efektif karena didasarkan pada sifat genetik saja dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Azrai, 2016).

#### **KESIMPULAN**

Pendekatan molekuler *via* RT-qPCR menunjukkan perbedaan akumulasi transkrip gen putatif pada genotipe tanaman kelapa sawit yang rentan dan toleran terhadap *G. boninense*. Ketiga gen putatif yang diuji memiliki perbedaan akumulasi transkrip di antara dua genotipe. Gen *Eg#007* secara signifikan dapat dikembangkan menjadi biomarker positif untuk seleksi bibit kelapa sawit terkait toleransi terhadap *G. boninense*. Prediksi fungsi gen *Eg#007* berpotensi mengungkap mekanisme aksi-reaksi antara *G. boninense* dan akar kelapa sawit.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Pengelola Dana Perkebunan Kelapa Sawit (BPDPKS) yang telah mendanai penelitian ini (Grant Riset No. PRJ-31/DPKS/2018).

#### **KONTRIBUTOR PENULIS**

Riza dan Asmini merupakan pemilik gagasan riset serta mendesain eksperimen di dalam penelitian ini. Riza dan Vivi menulis manuskrip penelitian. Dini, Riza dan Irfan mendesain primer PCR yang digunakan dalam penelitian ini. Vivi, Rokhana, Dini, dan Irfan melakukan eksperimen RT-qPCR dan analisis ekspresi gen. Rokhana dan Sri membuat desain serta sampling bibit sawit di pembibitan khusus *Ganoderma*. Sapto mengarahkan Vivi selama kegiatan penelitian serta memberikan kritik dan saran dalam pengembangan manuskrip. Priyono dan Asmini memberikan pengarahan dalam penyesuaian data dan pola pembahasan penelitian.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Azlina, B. and K. S. Chow. 2011. Real time RT-PCR as a tool for quantitative *Hevea* gene expression studies. *Journal of Rubber Research*, 14(1): 51-64.
- Azrai, M. 2016. Pemanfaatan markah molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman. *Jurnal AgroBiogen*: 1(1), 26-37.

- Baek, D., P. Pathange, J. S. Chung, J. Jiang, L. Gao, A. Oikawa, M. Y. Hirai, K. Saito, P. W. Pare, and H. Shi. 2010. A stress-inducible sulphotransferase sulphonates salicylic acid and confers pathogen resistance in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment*, 33(8) : 1383-1392.
- Bahari, M. N. A., N. M. Sakeh, S. N. A. Abdullah, R. R. Ramli, and S. Kadkhodaei. 2018. Transcriptome profiling at early infection of *Elaeis guineensis* by *Ganoderma boninense* provides novel insights on fungal transition from biotrophic to necrotrophic phase. *BMC Plant Biology*, 18(1): 377.
- Boyer, R. 1986. *Modern experimental biochemistry*. Pearson Education India, 1986, 480
- Budiani, A. and F. Marsa. 2010. Analisis sekuen DNA daerah 5'-EGAD1 dari buah kelapa sawit normal dan abnormal hasil kultur jaringan (Analysis of DNA sequences of the 5'-flanking EGAD1 from normal and abnormal fruit from tissue culture derived oil palm). *E-Journal Menara Perkebunan*, 78(2): 43-51.
- Faizah, R, R. A. Putranto, S. Wening, D. Sukma, V. R. Raharti, A. Budiani, and S. Sudarsono. 2020. Differential expression of root specific genes of oil palm seedlings at early stage of *Ganoderma boninense* infection. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 418, 012044.
- GAPKI. 2019. GAPKI memproyeksi produksi minyak sawit Indonesia capai 50 juta ton tahun ini. (On line). Jakarta: Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia. <https://industri.kontan.co.id>.
- Ginzinger, D. G. 2002. Gene quantification using real-time quantitative PCR. *Experimental Hematology*, 30(6): 503-512.
- Giulietti, A., L. Overbergh, D. Valckx, B. Decallonne, R. Bouillon, and C. Mathieu. 2001. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. *Methods*, 25(4): 386-401.
- Hannum, S., K. Akashi, U. W. Suharsono, A. Hartana, and A. Yokota. 2011. Isolasi fragmen cDNA dari gen penyandi aktin dari *Melastoma malabathricum*. *Makara Journal of Science*, 14(2): 163-167.
- Hernández-Sebastiá, C., L. Varin, and F. Marsolais. 2008. Sulfotransferases from Plants, Algae and Phototrophic Bacteria. In eds. R. Hell, C. Dahl, D. Knaff and T. Leustek, *Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms*. Dordrecht: Springer Netherlands. 111-130
- Hirschmann, F., F. Krause, and J. Papenbrock. 2014. The multi-protein family of sulfotransferases in plants: composition, occurrence, substrate specificity, and functions. *Frontiers in plant science*, 5: 556-556.
- Joko, T., N. Kusumandari, dan S. Hartono. 2011. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum*, penyebab penyakit busuk lunak Anggrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 17(2): 54-59.
- Kresnawaty, I., K. A. Audah, H. Munawar, dan H. Widiastuti. 2017. Karakteristik antibodi anti *Ganoderma* sp. yang dihasilkan dengan menggunakan jenis dan sumber antigen yang berbeda (Characteristic of antibodies against *Ganoderma* sp produced from different types and sources of antigens). *E-Journal Menara Perkebunan*, 85(1): 1-8.
- Pfaffl, M. W. 2004. Quantification strategies in real-time PCR. In ed. S. A. Bustin, *AZ of quantitative PCR*. La Jolla, CA, USA: International University Line (IUL). 87-113

- Priyono and R. A. Putranto. 2014. Molecular markers and their application for DNA fingerprinting and genetic diversity studies in *Coffea* species. *Menara Perkebunan*, 82(1): 39-50.
- Purnamasari, M. I., C. Prihatna, A. W. Gunawan, dan A. Suwanto. 2012. Isolasi dan identifikasi secara molekuler *Ganoderma* spp. yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang di kelapa sawit. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 8(1): 9-12.
- Putranto, R. A., C. Duan, Kuswanhadi, T. Chaidamsari, M. Rio, P. Piyatrakul, E. Herlinawati, J. Pirrello, F. Dessailly, J. Leclercq, F. Bonnot, C. Tang, S. Hu, and P. Montoro. 2015a. Ethylene Response Factors are controlled by multiple harvesting stresses in *Hevea brasiliensis*. *PLoS ONE*, 10(4): e0123618.
- Putranto, R. A., Kuswanhadi, and P. Montoro. 2014. Molecular response of *Hevea brasiliensis* Ethylene Response Factors (HbERFs) as expression marker genes in response to ethephon stimulation in rubber tree clones (Respon molekuler *Hevea brasiliensis* Ethylene Response Factors (HbERFs) sebagai marka ekspresi gen terhadap stimulasi ethephon pada klon-klon tanaman karet). *Menara Perkebunan*, 82(2): 70-80.
- Putranto, R. A., J. Leclercq and P. Montoro. 2015b. Evaluation of eleven reference genes for Reverse Transcriptase Quantitative PCR of rubber tree under water deficit. *Menara Perkebunan*, 83(2): 86-94.
- Putranto, R. A., I. Syaputra, and A. Budiani. 2016. Differential gene expression in oil palm varieties susceptible and tolerant to *Ganoderma*. In *The 6th Indonesian Biotechnology Conference "Enhancing Industrial Competitiveness Through Biotechnology Innovation"*, ed. M. G. Ahmad Yunus, Edi Purwanto, Djoko Purnomo, Ekowati Chasanah, Siswa Setyahadi, Dono Indarto, Amalia T. Sakya, 233-243. Surakarta, Indonesia: Faculty of Agriculture, Universitas Sebelas Maret.
- Qin, Y. M., C. Y. Hu, Y. Pang, A. J. Kastaniotis, J. K. Hiltunen, and Y. X. Zhu. 2007. Saturated Very-Long-Chain Fatty Acids Promote Cotton Fiber and *Arabidopsis* Cell Elongation by Activating Ethylene Biosynthesis. *The Plant Cell*: 19(11), 3692.
- Singh, R., M. Ong-Abdullah, E. T. L. Low, M. A. A. Manaf, R. Rosli, R. Nookiah, L. C. L. Ooi, S. E. Ooi, K. L. Chan, M. A. Halim, N. Azizi, J. Nagappan, B. Bacher, N. Lakey, S. W. Smith, D. He, M. Hogan, M. A. Budiman, E. K. Lee, R. DeSalle, D. Kudrna, J. L. Goicoechea, R. A. Wing, R. K. Wilson, R. S. Fulton, J. M. Ordway, R. A. Martienssen, and R. Sambanthamurthi. 2013. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. *Nature*, 500(7462): 335-339.
- Siradjuddin, I. 2015. Dampak perkebunan kelapa sawit terhadap perekonomian wilayah di Kabupaten Rokan Hulu. *Jurnal Agroteknologi*, 5(2): 7-14.
- Suiko, M., K. Kurogi, T. Hashiguchi, Y. Sakakibara, and M. C. Liu. 2017. Updated perspectives on the cytosolic sulfotransferases (SULTs) and SULT-mediated sulfation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(1): 63-72.
- Sulistyaningsih, E. 2007. Polymerase Chain Reaction (PCR): era baru diagnosis dan manajemen penyakit infeksi. *Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Jember*, 1(1): 16-25.
- Susanto, A., A. E. Prasetyo and S. Wening. 2013. Laju infeksi *Ganoderma* pada

- empat kelas tekstur tanah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 9(2): 39-46.
- Udvardi, M. K., T. Czechowski, and W. R. Scheible. 2008. Eleven golden rules of quantitative RT-PCR. *Plant Cell*, 20(7): 1736-7.
- Verica, J. A., L. Chae, H. Tong, P. Ingmire, and Z. H. He. 2003. Tissue-Specific and Developmentally Regulated Expression of a Cluster of Tandemly Arrayed Cell Wall-Associated Kinase-Like Kinase Genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 133(4): 1732.
- Wagner, U., R. Edwards, D. P. Dixon and F. Mauch. 2002. Probing the Diversity of the *Arabidopsis* glutathione S-Transferase Gene Family. *Plant Molecular Biology*, 49(5): 515-532.