

PERBANDINGAN KOMPOSISI ASAM LEMAK KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) HASIL TRANSFORMASI GENETIK

(*The comparison of Fatty Acid Composition of Genetic Transformation Oil Palm
(Elaeis Guineensis Jacq.)*)

FATHURRAHMAN

Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Riau
Jl Kaharuddin Nasution Km. 11 Perhentian Marpoyan Pekanbaru 28284 Riau.
Telp: 0761-72126 ext. 123
Email : fathur_uir@yahoo.co.id

ABSTRACT

The objective of this research is to be able to observe the results of the integration as well as the expression of the desaturase gene in the antisense conformation. The selection of an appropriate tissue culture media is required for a faster growth, development and regeneration of the explant. PCR analysis shows that the putative transgenes were successfully inserted into the target tissue. They were then analysed via gas chromatography to detect its effect on the fatty acid profile. As a result, it was discovered that the three plants contained a higher level of saturated fatty acids (C:12 – C:18), as well as a reduced level of unsaturated fatty acids (C18:1 – C18:3). This probably shows that the stearoyl-ACP desaturase gene might be able to block or reduce the levels of unsaturated fatty acid while increasing the levels of saturated fatty acid. As this are preliminary results further work needs to be carried out to verify this observation.

Keywords: oil palm, stearoyl-ACP desaturase gene, pADST35, gas chromatography (GC), fatty acid

PENDAHULUAN

Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati yang dibutuhkan baik untuk dikonsumsi oleh manusia dan dapat juga dijadikan bahan baku minyak. Kebutuhan penggunaan minyak dan lemak dunia semakin meningkat setiap tahun, sedangkan produksinya relatif masih kurang dibanding dengan permintaan. Hal ini merupakan peluang yang baik untuk komoditas kelapa sawit agar terus meningkatkan produksi dan luas penanamannya untuk memenuhi permintaan konsumen. Meskipun demikian, minyak kelapa sawit menghadapi saingan dari beberapa minyak dan lemak lain, diantaranya yang terpenting adalah minyak kacang kedele (*Glycine max*), minyak bunga matahari (*Helianthus annuus*), minyak biji rep (*Brassica* spp.) dan minyak jagung (*Zea mays*).

Di negara-negara yang beriklim sedang penggunaan minyak sawit olein kurang populer karena olein kurang stabil pada suhu yang lebih rendah dari negara-negara tropik, sehingga konsumsi minyak sawit kurang dari 20% (Berger, 1981). Kandungan minyak kelapa sawit yang diperoleh dari minyak mesokarpa mengandung lebih kurang 44% asam palmitik (C16:0), 5% asam stearik (C18:0), 39% asam oleik mono tak jenuh (C18:1) dan 10% asam linoleik poli tak jenuh (C18:2) (Oo *et al.*, 1985). Hal ini menunjukkan terdapat keseimbangan

dalam minyak sawit, yaitu antara kandungan asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh.

Mengingat terdapat peningkatan persaingan minyak sayuran dari sumber lain terhadap minyak sawit, perbaikan-perbaikan perlu dilakukan untuk meningkatkan kualitas dan penggunaan minyak sawit. Teknik pemuliaan tanaman telah digunakan dalam usaha memperbaiki ciri-ciri agronomi dan ekonomi kelapa sawit. Persilangan antara varietas dura dengan pisifera menghasilkan hibrida tenera, yang memperlihatkan peningkatan hasil sebesar 30% dibandingkan varietas dura (Soh *et al.*, 1994).

Keberhasilan dalam manipulasi komposisi asam lemak dalam beberapa tumbuhan transgenik telah banyak dilaporkan. Sebagai contoh adalah peningkatan komposisi asam lemak dalam biji rep transgenik melalui pemindahan mRNA antisense untuk stearoil-ACP desaturase (Knutzon *et al.* 1992a) dan produksi asam laurik di dalam biji rep transgenik melalui pemindahan gen lauroil-ACP thioesterase yang diperoleh dari California Bay (Voelker *et al.*, 1992). Pada dasarnya komposisi asam lemak suatu tumbuhan tergantung kepada spesies, genus, atau famili suatu tumbuhan (Gunstone *et al.*, 1986). Sebagai contoh, minyak tumbuhan yang diperoleh dari famili Brassicaceae mempunyai tingkat asam erusik yang tinggi (20 – 50%), sementara minyak tumbuhan dari famili Umbelliferae mempunyai tingkat asam

petroselinik yang tinggi (60 – 85%) (Gunstone *et al.*, 1986), kedua jenis asam lemak tersebut jarang dijumpai di dalam famili tumbuhan lain.

Teknik rekayasa genetik dapat mempercepat proses perbaikan ciri-ciri agronomi dan ekonomi serta dapat mengatasi beberapa kendala utama yang dihadapi dalam pemuliaan tanaman tradisional seperti sumber gen yang akan dipindahkan tidak terbatas hanya pada spesies berkerabat. Hal tersebut membuka peluang bagi sumber-sumber genetik yang sangat luas untuk dimanfaatkan. Kelebihan rekayasa genetik dapat melakukan modifikasi yang lebih khusus dan dilakukan dalam jumlah yang banyak dan waktu yang lebih singkat (Gasser dan Fraley 1991). Kandungan asam lemak jenuh (asam palmitik dan asam stearik) di dalam minyak kelapa sawit hampir mencapai 50%. Oleh karena itu, penggunaan teknik rekayasa kelapa sawit untuk menghasilkan komposisi asam lemak yang lebih tinggi juga akan memberikan nilai tambah untuk kegiatan industri makanan dan industri oleo kimia.

Transformasi genetik sesuatu tumbuhan harus memenuhi beberapa persyaratan, pertama gen yang akan digunakan harus dimasukkan ke dalam sel melalui dinding sel tumbuhan dan membran plasma. Kedua, transgen harus dapat dipindahkan ke dalam nukleus sel, dimana gen tersebut harus berintegrasi secara stabil ke dalam genom tumbuhan inang. Ketiga, transgen harus diwariskan kepada progeni dengan nisbah seperti hukum Mendel untuk membuktikan transformasi secara stabil berhasil dilakukan. Pengisolasian dan penentuan promoter yang spesifik jaringan perlu dilakukan supaya pengekspresian transgen terhadap jaringan penyimpanan minyak terbatas. Hal lain yang harus dipertimbangkan adalah bagaimana jaringan yang telah ditransformasikan dapat tumbuh dengan baik dan mudah untuk diinisiasi menjadi planlet. Keberhasilan transformasi genetik kelapa sawit telah dilaporkan Parveez (1997) dan Shahabuddin (2000).

Beberapa gen yang termasuk dalam menghasilkan asam lemak telah berhasil diisolasi. Di antaranya adalah gen asetil-KoA karboksilase, ketoasil sintase (KAS), protein pembawa asil (ACP), stearoil ACP-desaturase, asil ACP thioesterase, hidrosilase, lipoksigenase, desaturase asam lemak (Budziszewski *et al.*, 1996). Beberapa gen telah diasingkan dari *E. guineensis* var. *tenera* dan *E. oleifera*. Untuk gen lengkap seperti Δ^9 -stearoil ACP desaturase (Shah dan Rashid, 1997), ketoasil ACP sintase I (Rashid, 1996), dan oleil thioesterase (Asemoto dan Shah,

1998). Untuk gen tidak lengkap juga telah diisolasi seperti palmitoil-ACP thioesterase (Cha, 2001) dan 3-ketoasil-ACP sintase III (Shahabuddin, 2000). Enzim Δ^9 -stearoil-ACP desaturase berperan sebagai faktor yang penting dalam menentukan persentase komposisi asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh (Ohlogge dan Browse 1995; Harwood 1988).

Konstruksi pADST35 mengandung gen stearoil-ACP desaturase dalam aturan antisense. Enzim ini berperan menghalangi atau mengurangi sintesis asam lemak jenuh C:18 membentuk asam lemak tak jenuh C:18.1 dan rantai karbon – rantai karbon yang lebih panjang. Sebaliknya konstruk ini dapat mengarahkan lebih banyak sintesis asam lemak jenuh. Penelitian pada varietas dura adalah meningkatkan kualitas minyaknya dan merupakan kajian perintis.

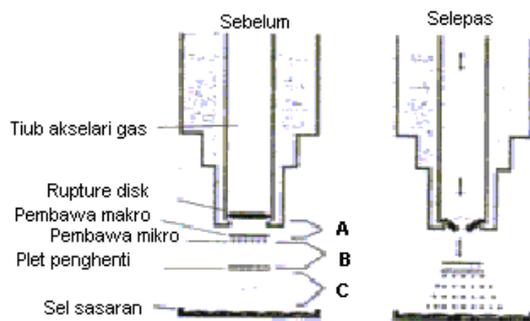
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan kandungan asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh untuk menentukan apakah gen desaturase dalam aturan antisense dapat diintegrasikan dan diekspresikan ke dalam genom kelapa sawit dura.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan sebagai jaringan sasaran adalah embrio belum matang buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *dura*) yang berumur 10 sampai 11 minggu setelah pembungaan terbuka (*open pollinated*). Prosedur biolistik sebelum dan sesudah penembakan (Gambar 1) Plasmid pADST 35 berukuran 9036 pasangan basa (pb) yang mempunyai gen desaturase dalam aturan antisense, dengan promoter ubiquitin dan terminator nos. Gen bar digunakan untuk penanda seleksi transformasi dan mempunyai dua tempat pemotongan enzim Hind III. Plasmid ini berukuran 9036 pb.

Mikroprojektil yang digunakan adalah partikel emas yang berukuran 1.6 μm (Sanford *et al.*, 1993). Partikel emas seberat 60 mg dimasukkan ke dalam *test tube* eppendorf dan ditambah dengan 1 ml 70% etanol yang disediakan segar. Mikroprojektil (Mikro-pembawa) divortek selama 3-5 menit. Campuran ini didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit. Partikel emas dikumpulkan dengan sentrifugasi pada 13.000 rpm selama 5 detik. Buang supernatan dan pelet yang didapatkan, kemudian dicuci dengan air destilasi steril sebanyak 3 kali: 1 ml air destilasi ditambahkan dan *test tube* divortex selama 1 menit; kemudian partikel dibiarkan mengendap selama 1 menit dan dikumpulkan lagi dengan

sentrifugasi selama 5 detik dan supernatan dibuang. Selanjutnya, ditambah gliserol 50% steril (telah di otoklaf) dengan kepekatan akhir 60 mg/mL. Mikro-pembawa divortex dengan kuat selama 2 menit untuk menghindari pembentukan aglomerat. Selanjutnya, mikro-pembawa dijadikan volume 50 μ L ke dalam *test tube* eppendorf baru dan disimpan pada suhu -30 $^{\circ}$ C.



Gambar 1. Skema prosedur biolistik sebelum dan sesudah penembakan. Huruf A, B, dan C mewakili jarak dapat diubah untuk mempengaruhi kecepatan mikroprojektil yang menembus sel sasaran. Huruf A : jarak antara ruptur disk dengan pembawa-makro; huruf B: jarak antara pembawa-mikro dengan plat penghenti; huruf C: jarak antara plat penghenti dengan sel sasaran. Tanda panah mewakili aliran gas helium (Dari Biorad-US/EG Bulletin 1688 yang telah direkayasa).

Perekatan DNA dengan bahan kimia lain digunakan menurut metode Sanford *et al.*, 1993 yang dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF). Mikro-pembawa disediakan sebanyak 50 μ L yang ditambahkan secara berurutan, yang dimulai dengan 50 μ L 2.5M CaCl_2 lalu 20 μ L 0.1 spermidin, kemudian dibiarkan mengendap selama satu menit. Campuran ini divortex dengan kuat selama tiga menit. Mikro-pembawa dibiarkan beberapa detik dan supernatan dibuang. Supernatan dibuang dan untuk mensterilkan mikro-pembawa dicuci dengan 140 μ L 70 % etanol jangan mengganggu pelet, selanjutnya etanol dibuang. Etanol 100% ditambahkan sebanyak 140 μ L di atas mikro-pembawa, jangan menyentuh pelet dan etanol dibuang. Langkah terakhir mikro-pembawa ditambah etanol 100% sebanyak 48 μ L dan distribusikan sebanyak masing-masing 6 μ L di atas makro-pembawa dan ditunggu sampai kering yang dilakukan dalam LAF.

Penembakan mikro-pembawa ke dalam jaringan sasaran yang sebelumnya

dipersiapkan hal hal sebagai berikut; sebanyak 6 μ L mikro-pembawa yang telah dilapisi DNA dan disapukan secara merata ke atas permukaan makro-pembawa, kemudian ditembak menggunakan alat biolistik PDS-1000/sistem He (Bio-Rad) Jaringan sasaran yang digunakan adalah embrio belum matang (EBM) dan kalus. Penembakan embrio belum matang dilakukan 3 sampai 4 hari setelah ekstraksi, sedangkan penembakan jaringan sasaran kalus umur 4 bulan setelah ekstraksi. Penggunaan parameter dalam proses penembakan adalah mengikuti cara Ruslan *et al.* (1996). Parameter yang digunakan dalam penembakan adalah seperti berikut; tekanan *rupture disc* 900 psi, jarak di antara makro-pembawa dan plat penghenti 6 mm, jarak antara plat penghenti dan jaringan sasaran 60 mm dan tekanan vakum sebesar 26 inci Hg. Jaringan sasaran yang telah ditembak dimasukkan dalam inkubator pertumbuhan dalam keadaan gelap selama 12 jam.

Pemilihan tanaman yang tertransformasi berdasarkan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Untuk analisis gas kromatografi (GC), digunakan sampel tanaman yang positif tertransformasi dalam analisis PCR. Sampel daun diambil dengan cara memotongnya dengan gunting secara menyeluruh pada setiap tanaman, dan diambil sebanyak 1 gram per tanaman, karena untuk menganalisis kandungan asam lemak dengan sistem GC, setiap sampel daun diperlukan minimal 1 gram. Analisis GC untuk setiap sampel diulang sebanyak tiga kali untuk meningkatkan akurasi.

Persentase profil asam lemak dapat dilakukan dengan metode analisis GC digunakan bagi sampel daun tanaman sawit yang telah dianalisis PCR baik sampel kontrol maupun sampel tertransformasi putatif. Analisis ini adalah berlandaskan metode Cramers dan McNair (1983). Sampel daun pada semua tanaman yang akan dianalisis dipotong halus sampai diperoleh berat masing-masing sampel sebanyak satu gram. Analisis statistik dilakukan dengan *software* SAS (*Statistical Analysis System*), jika terdapat perbedaannya diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5% (Duncan, 1959).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Integrasi Gen Desaturase ke Atas Profil Asam Lemak

Analisis profil asam lemak ini bertujuan untuk mengetahui persentase asam lemak jenuh (C:12 – C:18) dan asam lemak tak jenuh (C:18.1 – C:18.3) yang terdapat di dalam sampel daun. Walaupun sampel

transgenik putatif jumlahnya hanya tiga tanaman namun dapat memperlihatkan kesan yang berbeda.

Perbandingan Persen Kandungan Asam Lemak Sampel Kontrol (KN1) Dan Tertransformasi (TRD6) Umur 12 Bulan

Sampel daun yang dianalisis dengan GC terdiri dari umur yang sama, yaitu mulai

embrio belum matang (EBM) yang diekstrak dan dikultur secara *in vitro* menjadi planlet yang ditanam dalam polibag di rumah kaca. Dalam analisis GC masing-masing sampel diulang sebanyak tiga kali. Tabel 1 menunjukkan sampel yang digunakan analisis profil asam lemak yang berasal dari tanaman yang dianalisis PCR.

Tabel. 1 Analisis PCR Sebagian dari Sampel Tanaman Kontrol dan Tertransformasi

Tanaman kontrol		Tanaman tertransformasi			
Nomor Tanaman	Hasil PCR	Nomor Tanaman	Hasil PCR	Nomor Tanaman	Hasil PCR
1. KN1	-	1. TRD1	+	36. TRD6.19	-
2. KN2	-	2. TRD2	-	37. TRD6.20	-
3. KN3	-	3. TRD3	-	38. TRD6.21	-
		4. TRD4	-	39. TRD6.22	-
		5. TRDL1	+	40. TRD6.23	-
		6. TRDL2	-	41. TRD6.24	-
		7. TRDL3	-	42. TRD6.25	-
		8. TRDL4	-	43. TRD6.26	-
		9. TRDL5	-	44. TRD6.27	-
		10. TRDL6	-	45. TRD6.28	-
		11. TRDL7	-	46. TRD6.29	-
		12. TRDL8	-	47. TRD6.30	-
		13. TRDL9	-	48. TRD6.31	-
		14. TRDL10	-	49. TRD6.32	-
		15. TRDL11	-	50. TRD6.33	-
		16. TRDL12	-	51. TRD6.34	-
		17. TRDL13	-	52. TRD6.35	-
		18. TRD6	+	53. TRD6.36	-
		19. TRD6.2	-	54. TRD6.37	-
		20. TRD6.3	-	55. TRD6.38	-
		21. TRD6.4	-	56. TRD6.39	-
		22. TRD6.5	-	57. TRD6.40	-
		23. TRD6.6	-	58. TRD6.41	-
		24. TRD6.7	-	59. TRD6.42	-
		25. TRD6.8	-	60. TRD6.43	-
		26. TRD6.9	-	61. TRD6.44	-
		27. TRD6.10	-	62. TRD6.45	-
		28. TRD6.11	-		
		29. TRD6.12	-		
		30. TRD6.13	-		
		31. TRD6.14	-		
		32. TRD6.15	-		
		33. TRD6.16	-		
		34. TRD6.17	-		
		35. TRD6.18	-		

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil analisis total rata-rata asam lemak jenuh (C:12-C:18) dan tak jenuh (C:18.1-C:118.3) sampel kontrol (KN1) dan tertransformasi (TRD6) pada umur yang sama (12 bulan) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata. Meskipun demikian secara angka kandungan asam lemak jenuh sampel TRD6 lebih tinggi yaitu 32.04% dibandingkan sampel KN1 yaitu 28.21%. Hasil analisis yang lebih terperinci terdapat perbedaan yang nyata dimana kandungan C:16 pada sampel TRD6 yaitu 23.95% lebih tinggi dibandingkan C:16 sampel kontrol yaitu 17.09%. Untuk rantai karbon lain

seperti C:12, C:14 dan C:18 menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata, meskipun secara angka sampel TRD6 menghasilkan persen yang lebih tinggi dibandingkan sampel KN1.

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa hasil analisis terhadap total persen kandungan asam lemak tak jenuh antara sampel kontrol (KN1) dan tertransformasi (TRD6) tidak terdapat perbedaan nyata. Sampel tertransformasi mampu menghasilkan persen yang lebih rendah, yaitu 58.08% dibandingkan sampel KN1 yang menghasilkan 62.10%. Terdapat

perbedaan yang nyata terhadap penurunan kandungan asam lemak tak jenuh. Rantai karbon pada C:18.3 pada sampel KN1 45.51% menurun menjadi 37.97% pada sampel TRD6. Kandungan C:18.1 sampel TRD6 berbeda nyata dengan C:18.1 pada KN1 yaitu terjadi peningkatan sebanyak 4.66%.

Perbandingan Persen Kandungan Asam Lemak Sampel Kontrol (KN2) dan Tertransformasi (TRDL1) Umur 18 Bulan

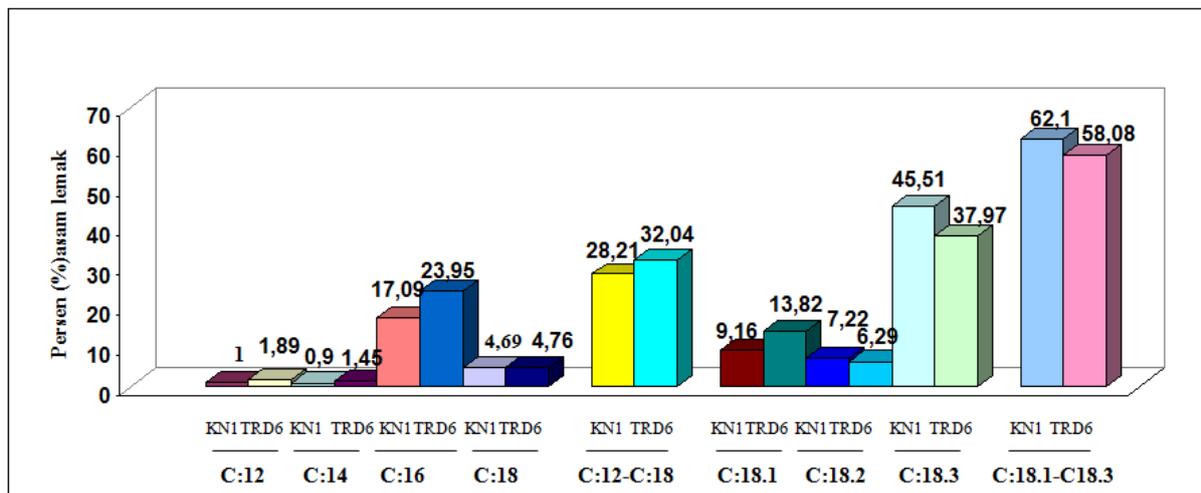
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 3 persen total kandungan asam lemak jenuh (C:12-C:18) sampel kontrol (KN2) dan tertransformasi (TRDL1) pada umur yang sama (18 bulan). Jumlah total rata-rata

kandungan asam lemak jenuh antara sampel KN2 dan TRDL1 menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata, dimana kandungan asam lemak jenuh pada sampel KN2 adalah 24.41% meningkat menjadi 32% pada sampel TRDL1. Terdapat perbedaan yang nyata kandungan asam lemak jenuh pada C:14, C:16 dan C:18, sedangkan pada C:12 tidak terdapat perbedaan yang nyata. Kandungan asam lemak sampel KN2 pada C:14, C:16 dan C:18 masing-masing 0.97%, 19.81% dan 4.25% terjadi peningkatan C:14, C:16 dan C:18 pada sampel TRDL1 yaitu masing-masing 1.76%, 21.73% dan 5.09%. Persen asam lemak jenuh yang tertinggi adalah pada C:16 pada sampel TRDL1.

Tabel 2. Perbandingan Persen Kandungan Asam Lemak pada Sampel Kontrol dan Tertransformasi Umur 12 Bulan (KN1, TRD6)

Asam Lemak	Umur 12 bulan		Umur 18 bulan		Umur 25 bulan	
	KN1	TRD6	KN2	TRDL1	KN3	TRD1
Jenuh						
C:12	1.00 ± 0.03 (d)	1.89 ± 0.07 (c)	1.00 ± 0.09 (f)	2.57 ± 0.37 (ef)	-	10.62 ± 0.20 (c)
C:14	0.90 ± 0.06 (d)	1.45 ± 0.17 (d)	0.97 ± 0.01 (f)	1.76 ± 0.19 (e)	-	6.88 ± 0.19 (d)
C:16	17.09 ± 1.49 (b)	23.95 ± 0.90 (a)	19.81 ± 1.57 (b)	21.73 ± 0.73 (a)	21.68 ± 0.24 (b)	30.97 ± 1.93 (a)
C:18	4.69 ± 0.38 (c)	4.76 ± 0.07 (c)	4.25 ± 0.03 (d)	5.90 ± 0.16 (c)	6.52 ± 0.92 (d)	6.55 ± 0.20 (d)
Jumlah	28.21 ± 1.88 (a)	32.04 ± 0.90 (a)	23.41 ± 1.43 (b)	32.00 ± 1.44 (a)	28.99 ± 0.10(b)	55.04 ± 1.82 (a)
Tak jenuh						
C:18.1	9.16 ± 0.66 (d)	13.82 ± 0.14 (c)	9.27 ± 0.77 (c)	9.32 ± 0.62 (c)	19.94 ± 0.90 (c)	26.49 ± 0.73 (b)
C:18.2	7.22 ± 0.81 (d)	6.29 ± 0.19 (d)	6.26 ± 1.50 (d)	7.45 ± 0.22 (cd)	10.42 ± 0.38 (d)	1.40 ± 0.48 (f)
C:18.3	45.51 ± 4.35 (a)	37.97 ± 2.64 (b)	46.50 ± 4.20 (a)	39.51 ± 0.48 (b)	32.72 ± 0.37 (a)	7.48 ± 0.43 (e)
Jumlah	62.10 ± 5.74 (a)	58.08 ± 2.58(a)	61.9 ± 1.02 (a)	56.28 ± 1.32 (a)	62.9 ± 1.61(a)	35.38 ± 1.24 (b)

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (p < 0.05)



Gambar 2. Perbandingan kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh sampel kontrol (KN1) dan tertransformasi (TRD6) umur 12 bulan.

Pada Tabel 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil analisis terhadap total persen kandungan asam lemak tak jenuh antara sampel kontrol KN1 dan TRDL1 umur 18 bulan menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata, tetapi sampel TRDL1 menghasilkan total asam lemak tak jenuh lebih rendah yaitu 56.28% dibandingkan 61.9% pada sampel KN2. Penurunan jumlah total kandungan asam lemak tak jenuh

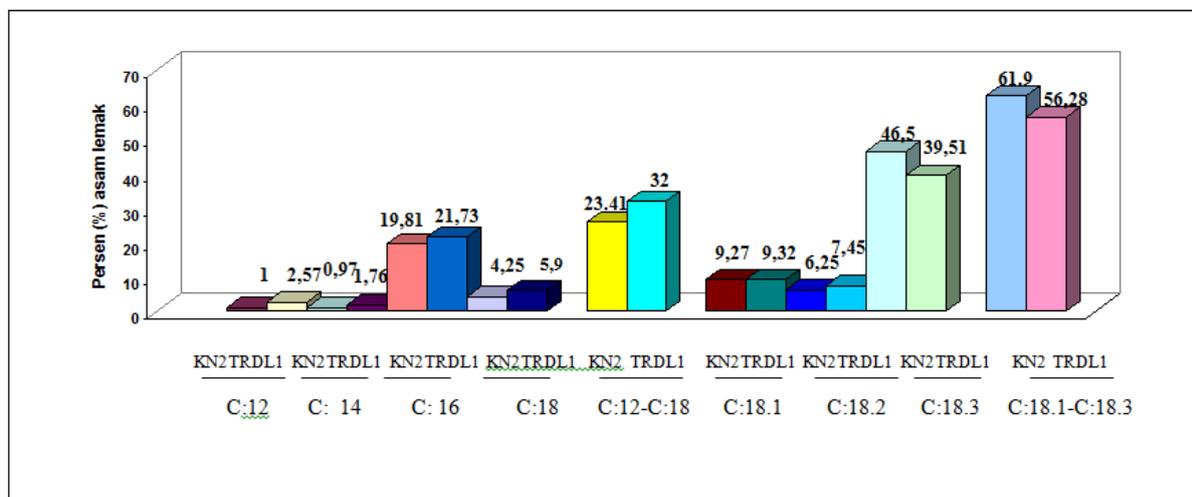
sebanyak 5.62%. Lebih lanjut hasil analisis kandungan asam lemak tak jenuh pada C:18.1 dan C:18.2 sampel KN2 dan TRDL1 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun berbedanyata hasil analisis pada C:18.3. Pada sampel KN2 menghasilkan tingkat 46.50% menurun menjadi 39.51% pada sampel TRDL1 dan terjadi penurunan asam lemak tak jenuh sebanyak 6.99%.

Perbandingan Kandungan Persen Asam Lemak Sampel Kontrol (KN3) dan Tertransformasi (TRD1) Umur 25 Bulan

Pada Tabel 2 dan Gambar 4 menunjukkan hasil analisis terhadap total rata-rata kandungan asam lemak jenuh (C:12 – C:18) sampel kontrol (KN3) dan tertransformasi (TRD1). Hasil analisis total rata-rata kandungan asam lemak jenuh antara sampel KN3 dan TRD1 menunjukkan berbeda nyata, dimana sampel TRD1 menghasilkan sebanyak 28.99% meningkat menjadi 55.04% pada sampel TRD1. Peningkatan kandungan asam lemak jenuh ini sebanyak 26.05%.

Analisis selanjutnya adalah total rata-rata kandungan asam lemak tak jenuh (C:18.1 – C:18.3) dimana terdapat perbedaan yang nyata antara sampel KN3 dengan TRD1. Total kandungan asam lemak tak jenuh sampel KN3 sebanyak 62.9% menurun menjadi 35.38% pada sampel TRD1 dan penurunan kandungan asam lemak tak jenuh sebanyak 27.25%. Lebih menarik lagi adalah kandungan C:18.1 yang semula pada KN3 sebanyak 19.94% meningkat menjadi 26.49% pada TRD1. Hal ini menunjukkan kandungan

sampel TRD1 pada C:18.1 lebih rendah jika dikaitkan dengan penggunaan kontruk yang mengandung gen \square 9-stearoil-ACP desaturase dalam aturan antisense, tetapi telah terjadi sebaliknya. Meskipun demikian kandungan asam lemak sampel KN3 pada rantai C:18.2 dan C:18.3 masing-masing 10.42% dan 32.72% dapat diturunkan masing-masing menjadi 1.4% dan 7.48%. Penurunan kandungan asam lemak tak jenuh pada sampel tertransformasi TRD1 ini adalah lebih tinggi dibandingkan sampel tertransformasi TRD6 dan TRDL1. Perbedaan hasil analisis gas kromatografi terutama pada sampel tertransformasi dari masing-masing tahap penembakan mikroprojektil diduga disebabkan teknik atau pelaksanaan penembakan yang dilakukan secara langsung tidak serupa akibat dipengaruhi ruang dan waktu, sehingga menghasilkan kandungan asam lemak yang berbeda pada 3 (tiga) tingkat penembakan. Penembakan pada tahap ketiga pada tanaman transgenik putatif menghasilkan perbedaan persen kandungan asam lemak yang lebih tinggi dibandingkan penembakan tahap pertama dan kedua.



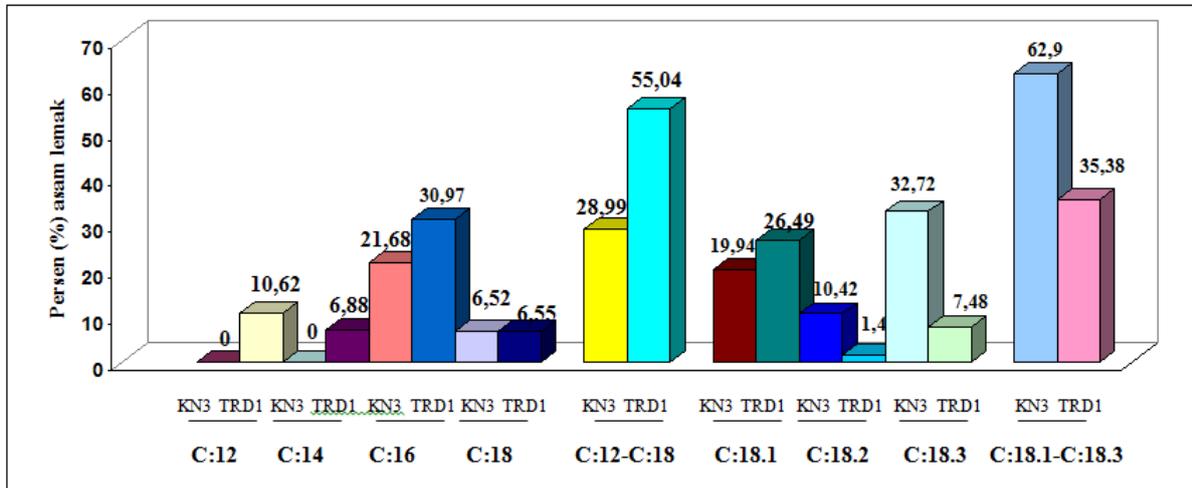
Gambar 3. Perbandingan kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh sampel kontrol (KN2) dan tertransformasi (TRDL1) umur 18 bulan.

Secara total kandungan asam lemak jenuh (C:12-C:18) sampel tertransformasi putative lebih tinggi dibandingkan sampel kontrol. Sebaliknya terjadi penurunan asam lemak tak jenuh (C:18.1-C:18.3) pada sampel tertransformasi. Hal ini menunjukkan bahwa gen \square 9-stearoil-ACP desaturase dalam aturan antisense memainkan peranan dalam mengubah persen kandungan asam lemak jenuh (C:12-C:18) dan tak jenuh (C:18.1-C:18.3). Gen \square 9-stearoil-ACP desaturase berhasil mengurangi sintesis asam lemak tak

jenuh sehingga berubah arah sintesisnya dan berlaku lebih banyak penumpukan asam lemak jenuh terutama penumpukan pada rantai C:16 (asam palmitat). Diperlukan analisis secara kontiniu pada sampel tanaman yang lebih banyak untuk memberikan persentase yang lebih tinggi. Hal ini juga menunjukkan potensi rekayasa genetik dalam penentuan kandungan asam lemak gen \square 9-stearoil-ACP desaturase dalam aturan antisense memainkan peranan untuk menentukan perbandingan keseluruhan asam lemak tak

jenuh kearah asam lemak jenuh yang di ekpresikan di dalam Brassica napus sehingga menyebabkan peningkatan asam stearik (C: 18) (Knutzon *et al.*, 1992). Eksprimen tersebut menunjukkan peningkatan asam stearik dari 1.8% menjadi 39.8% yang diikuti oleh

pengurangan asam oleik. Sedangkan dalam penelitian ini penggunaan gen stearoil-ACP desaturase menyebabkan peningkatan asam palmitat (C:16) di dalam tanaman dura tertransformasi.



Gambar 4. Perbandingan kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh sampel kontrol (KN3) dan tertransformasi (TRD1) umur 25 bulan.

Perbandingan rata-rata dan total rata-rata persen asam lemak sampel kontrol (KN) dan tertransformasi (TR)

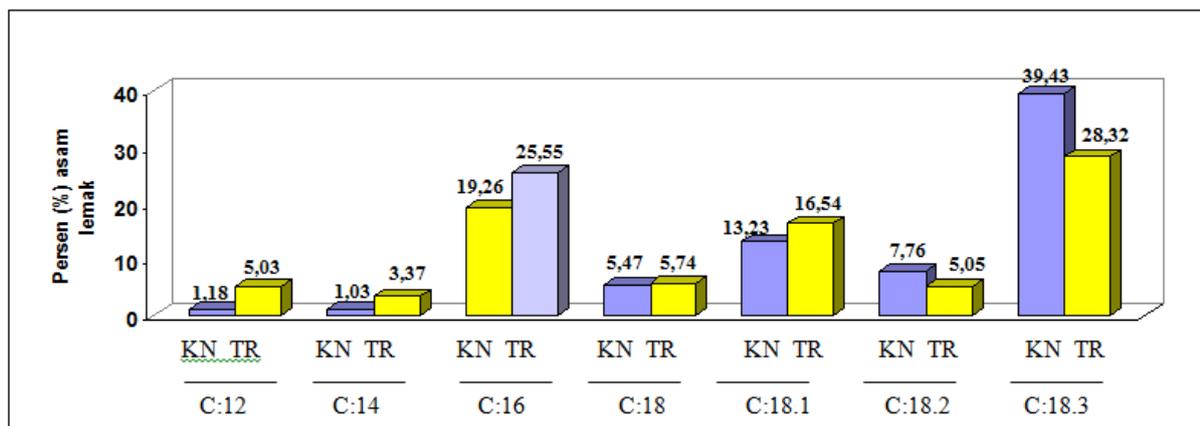
Analisis total kandungan asam lemak antara sampel kontrol dan sampel tertransformasi ini dilakukan dengan menggabungkan data yang ada pada sampel kontrol dan dibandingkan dengan sampel tertransformasi. Pada analisis ini kriteria peringkat umur sampel tidak dibedakan seperti pada analisis sebelumnya.

Tabel 3. Perbandingan Rata-rata Asam Lemak Sampel Kontrol (KN) dengan Tertransformasi (TR)

Asam Lemak	Sampel	
	Kontrol (KN) 3 tanaman	Tertransformasi (TR) 3 tanaman
Jenuh		
C:12	1.18 ± 0.33 (b)	5.03 ± 4.21 (a)
C:14	1.03 ± 0.17 (b)	3.37 ± 2.63 (a)
C:16	19.26 ± 2.09 (b)	25.55 ± 4.32 (a)
C:18	5.47 ± 0.89 (a)	5.74 ± 0.79 (a)
Jumlah	26.87 ± 3.06 (b)	39.69 ± 11.57 (a)
Tak jenuh		
C:18.1	13.23 ± 5.11(b)	16.54 ± 7.72 (a)
C:18.2	7.76 ± 2.03 (a)	5.05 ± 2.79 (a)
C:18.3	39.43 ± 5.99 (a)	28.32 ± 15.70 (b)
Jumlah	60.43 ± 4.34 (a)	49.91 ± 11.03 (b)

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$).

Pada Tabel 3 dan Gambar 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata kandungan asam lemak antara sampel kontrol (KN) dan sampel tertransformasi (TR). Tercatat hasil analisis jumlah keseluruhan asam lemak jenuh sampel kontrol adalah 26.87% dan sampel tertransformasi 39.69%. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kandungan asam lemak jenuh sebanyak 12.82% pada sampel tertransformasi (TR). Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan nyata kandungan C:12 pada sampel kontrol dan tertransformasi, dimana sampel KN menghasilkan 1.18% dan meningkat pada sampel TR yaitu 5.03%, begitu juga kandungan C:14 terjadi peningkatan, namun persentase rendah yaitu 2.34%. Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa analisis secara menyeluruh transformasi menggunakan enzim stearoil-ACP desaturase dalam aturan antisense telah berhasil meningkatkan asam lemak jenuh (C:12 – C:18).



Gambar 5. Perbandingan jumlah rata-rata asam lemak sampel kontrol (KN) dan tertransformasi (TR).

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata kandungan asam lemak tak jenuh (C:18.1 – C:18.3) antara jumlah keseluruhan sampel kontrol (KN) dengan sampel tertransformasi (TR), dimana sampel KN menghasilkan 60.43% sedangkan sampel TR menghasilkan 49.91% , sehingga terjadi penurunan asam lemak tak jenuh pada TR sebanyak 10.52%. Hasil analisis C:18.1 menunjukkan terdapat perbedaan nyata antara sampel KN dengan TR, dimana kandungan sampel KN ialah 13.23%, sedangkan pada TR terjadi peningkatan sebanyak 16.54% (peningkatan 3.31%).

Hasil analisis dapat dikatakan bahwa kandungan asam lemak tak jenuh yang tertinggi pada sampel KN atau TR adalah asam linoleik (C:18.3) yang terdapat di dalam daun dura. Sebaliknya relatif sedikit terdapat dalam mesokarpa dan isirung dura, pisifera dan tenera. Tam *et al.* (1976) melaporkan bahwa persen kandungan asam lemak jenuh yang terdapat dalam mesokarpa dura, tingkat yang tertinggi terdapat pada asam palmitat (C:16) sebanyak 45.9% diikuti oleh C:18 dan C:14 masing-masing sebanyak 3.6% dan 0.7%, sedangkan kandungan asam lemak tak jenuh yang tertinggi adalah pada C:18.1 yaitu 41.8% yang diikuti C:18.2 sebanyak 8%. Perbandingan komposisi asam lemak jenuh dan tak jenuh pada mesokarpa dura adalah 50.2% : 48% dan 52% : 48% pada tenera. Sedangkan kandungan asam lemak jenuh daun dura tertransformasi TRD1 dalam penelitian ini sebanyak 55.04%. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kandungan asam lemak jenuh antara sesama dura dengan jenis tisu yang berbeda.

Berdasarkan analisis terhadap kandungan asam lemak tak jenuh menunjukkan kandungan asam oleik (C:18.1) pada sampel tertransformasi umur 25 bulan adalah yang yang tertinggi yaitu 26.5%

dibandingkan sampel lain baik sampel kontrol maupun sampel tertransformasi dengan umur yang berbeda. Namun demikian pada sampel umur tersebut terjadi penurunan kandungan asam linoleik (C:18.2) dan asam lenolenik (C:18.3) masing-masing 1.14% dan 7.48% dan ini adalah kandungan yang terendah. Hasil tersebut diduga penekanan dengan menggunakan gen desaturase dalam aturan antisense yang berfungsi menghalangi sintesis asam lemak tak jenuh kurang efektif dan transkripsi lebih tinggi ke arah asam lemak tak jenuh terutama pada asam oleik. Kemungkinan juga akibat tindak balas gen desaturase ini menyebabkan ketidakseimbangan kandungan asam lemak tak jenuh.

Komposisi asam lemak dalam daun beberapa spesies lain ini juga telah ditentukan seperti pada daun bayam (*Amaranthus viridis* L.) dan daun sendok (*Plantago major* L.) yang mengandung asam lemak jenuh masing-masing 44.21% dan 38.72% dan asam lemak tak jenuh masing-masing 55.7% dan 59.18% (Jose *et al.*, 1999). Walau bagaimanapun kandungan asam palmitat (C:16) pada daun bayam dan daun sendok yang tertinggi dalam komposisi asam lemak jenuhnya.

Walaupun kajian ke atas tanaman dura transgenik putatif jumlahnya sedikit, namun berdasarkan analisis profil asam lemak menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata kandungan asam lemak secara keseluruhan, dimana terjadi peningkatan persen asam lemak jenuh dan sebaliknya terjadi penurunan persen asam lemak tak jenuh. Dengan demikian tanaman dura transgenik putatif menghasilkan asam lemak jenuh yang lebih tinggi dibandingkan tanaman kontrol. Hasil penelitian ini sebagai langkah awal yang diperlukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan hasil pengamatan yang lebih mendalam.

KESIMPULAN

Hasil analisis total kandungan asam lemak jenuh (C:12-C:18) pada sampel umur yang sama (12 bulan) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara sampel kontrol dan tertransformasi. Selanjutnya total kandungan asam lemak jenuh sampel kontrol dan tertransformasi umur 18 bulan terdapat perbedaan nyata dimana pada sampel kontrol (KN2) kandungannya 23.41% terjadi peningkatan menjadi 32.% pada sampel tertransformasi (TRDL1). Hasil analisis pada umur yang sama yaitu 25 bulan total kandungan asam lemak jenuh sampel kontrol (KN3) dan tertransformasi (TRD1) menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata yaitu sampel kontrol semula 28.99% meningkat menjadi 55.04%. Begitu pula terdapat perbedaan yang nyata kandungan asam lemak tak jenuh dimana pada sampel KN3 kandungannya 62.9% turun menjadi 35.38% pada sampel TRD1. Hasil analisis yang lebih terperinci tentang kandungan asam lemak jenuh (C:12 – C:18) dinyatakan bahwa kandungan C:16 merupakan yang tertinggi dibandingkan rantai karbon asam lemak lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Asemoto, O. and Shah. 1998. Expression of thioesterase genes in oil palm. *Proceeding, 10th National Biotechnology Seminar-Biotechnology towards the next millenium*. 4: 2-7.
- Berger, K.G. 1981. Food uses of oil palm. *Palm Oil Research Institute of Malaysia (PORIM) Occational Paper*. 2: 15-25
- Budziszewski, G.J., K.P.C. Craft, and D.F. Hildebrand. 1996. Uses of biotechnology in modifying plant lipids. *Lipids* 31 : 557-569.
- Cha, T.S. 2001. Pencirian gen-gen penting dan promotor spesifik mesokarpa untuk transformasi genetik kelapa sawit. *Tesis*. Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi.
- Cramers, C.A. and H.M. McNair. 1983. Gas chromatography, fundamentals and applications of chromatographic and electrophoretic methods. *J. Of chromatography library*. vol 22 A
- Duncan, A.J. 1959. *Quality control and industrial statistics*. Richard D. Irwin, Inc. Illinois. USA. p. 11-17.
- Gasser, C.S. and R.T. Fraley. 1991. Transgene crops. *Science American*: 52-69.
- Gunstone, F.D., J.L. Harwood, and F.B. Padley. 1986. Occurrence and characteristics of oils and fats. *In: Gunstone F.D., J.L. Harwood, and F.B. Padly. The lipid handbook*, p. 49-170. Chapman and Himl. London
- Harwood, J.L. 1988. Fatty acid metabolism. *Ann. Rev Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 39: 101-138.
- Jose, L. Guil-Guerrero, and I. Rodriguez-Garcia. 1999. Lipids classes, fatty acids and carotenes of the leaves of six edible wild plants. *Eur Food Res. Technol.* 209: 313-316.
- Knutzon, D.S., J.L. Bleibaum, J. Nelsen, J.C. Kridl, and G.A. Thomson. 1992. Isolation and characterization of two safflower oleoyl-acyl carrier protein thioesterase cDNA clones. *Plant Physiol* 100: 1751-1758.
- Knutzon, D.S., G.A. Thompson, S.E. Radke, W.B. Johnson, V.C. Knauf, and J.C. Kridl. 1992. Modification of Brassica seed oil by antisense ekspresi of stearoyl-ACP desaturase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (7) : 2624-2628.
- Luhs, W. and W. Friedt. 1994. Breeding of oil crops. *In: Murphy, D.J. Designer oil crops-breeding, processing and biotechnology*, p.12-32. New York: VCH. Publishing Inc.
- Ohlrogge, J.B. and J. Browse. 1995. *Lipid biosynthesis. The Plant Cell*. 7 : 957-970.
- Oo, K.C., S.K. The, H.T. Khor, and S.H. Augustine. 1985. Fatty acid synthesis in the oil palm (*Elaeis guineensis*): Incorporation of acetate by tissue slices of the developing fruit. *Lipids* 20 (4): 205-210.
- Parveez, G.K.A., 1997. Optimization of transformation techniques obtain transgenic oil palm. *Thesis*. Universiti Putra Malaysia, Serdang.
- Rajanaidu, N. and B.S. Jalani. 1995. *World-wide performance of DxP planting materials and future prospects. Proc.*

- PORIM Natl. Oil Palm Conference: Technologies in Plantation "the Way Forward"*, p. 1- 4. Serdang.
- Rajanaidu, N., B.S. Jalani, S.C. Cheah, and D.A. Khushairi. 1993. Oil palm breeding: Current issues and future developments. *Proc. PORIM Inter. Palm Oil Dev. Conf.*, p. 20-25 Kuala Lumpur: Research Signpost.
- Ruslan, A., Z. Alizah, Z.S. Siti, and Y.H. Wee. 1996. Transformation assessment for oil palm development. *Proc. 2nd National Congress on Genetics*, p. 13 – 15. Kuala Lumpur: Research Signpost.
- Shah, F.H., and O. Rashid. 1997. Isolation and characterization of genes involved in fatty acid synthesis. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 14: 127-136.
- Shahabuddin, H. 2000. Transformasi genetik kelapa sawit dan pemencilan dan pencirian gen yang mengkodkan 3-ketoasil-ACP sintase III (KASIII). *Tesis Sarjana Sains*. Universiti Kebangsaan Malaysia. Bangi.
- Voelker, T.A., A.C. Worrel, L. Anderson, J. Bleibaum, C. Fau, D.J. Hawkins, S.E. Radke, and H.M. Davies. 1992. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oil seed plants. *Science* 257: 72-74.