



Perbandingan Antara Kualitas DNA Daun Menggunakan Metode KIT (Promega) dan Metode Manual

Nurul Iqsan Oktavia Pangesti^{1*}, Awalul Fatiqin¹, Pratiwi Erika²

¹Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, Indonesia

²PT Bina Sawit Makmur, Indonesia

*e-mail korespondensi: nuruliqsan98@gmail.com

Abstract. *Plant oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is one of the crops that occupy a position important in the sector of the plantation. Because the thing that is required presence information complete including information of molecular. Extraction of DNA is the stage of the first study of molecular were very influential to the quality of the isolation of DNA. Isolation of DNA among others must produce DNA without the presence of contaminants such as proteins and RNA. Because the use of manual methods in DNA isolation this time has never been done, so it is necessary the comparison between the methods for comparing the methods of the best in produce quality isolation of DNA. This research was conducted to determine the comparison of the quality of oil palm leaf DNA (*Elaeis guineensis* Jacq.), As well as the effectiveness of the KIT method (promega) and manual methods. This research was conducted at the Molecular Breeding Laboratory of PT. Bina Sawit Makmur (Sampoerna Agro) Palembang, on the date 1-31 The August 2019. Isolation of DNA leaves of the coconut palm is done on the type of leaf of coconut oil are still young by using the methods of manual and KIT (promega). The parameters observed in the form of quality DNA to see the percentage and purity of DNA. Result of the study showed that the dilution of DNA work leaves using methods KIT (promega) has the result of more good in quality, purity DNA produced in the method KIT (promega) ranges from 1.579 to 3.226 in the long-wave $\lambda_{260/280}$ and 0.694 to 2.261 on a long-wave $\lambda_{260/230}$. Methods of manual, case is based on the results of purity that is generated on the isolation of DNA and efficiency of time that is needed in the construction, will be but costs are incurred far more expensive than the method manual.*

Keyword: *Elaeis guineensis* Jacq; DNA isolation ; KIT; manual

Abstrak. Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu tanaman yang menduduki posisi penting dalam sektor perkebunan. Karena hal itu diperlukan adanya informasi lengkap termasuk informasi molekuler. Ekstraksi DNA merupakan tahap pertama penelitian molekuler yang sangat berpengaruh terhadap kualitas isolasi DNA. Isolasi DNA antara lain harus menghasilkan DNA tanpa adanya kontaminan seperti protein dan RNA. Karena penggunaan metode manual dalam isolasi DNA kali ini belum pernah dilakukan sehingga diperlukan perbandingan antara metode untuk membandingkan metode yang terbaik dalam menghasilkan kualitas isolasi DNA. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan kualitas DNA daun kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.), serta efektivitas metode KIT (promega) dan metode manual. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Molekuler Breeding PT. Bina Sawit Makmur



(Sampoerna Agro) Palembang, pada tanggal 1-31 Agustus 2019. Isolasi DNA daun kelapa sawit dilakukan pada jenis daun kelapa sawit yang masih muda dengan menggunakan metode manual dan KIT (promega). Parameter yang diamati berupa kualitas DNA dengan melihat persentasi dan kemurnian DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengenceran DNA kerja daun menggunakan metode KIT (promega) memiliki hasil lebih baik secara kualitas, kemurnian DNA yang dihasilkan pada metode KIT (promega) berkisar 1,579 hingga 3,226 pada panjang gelombang λ 260/280 dan 0,694 hingga 2,261 pada panjang gelombang λ 260/230. Metode KIT (promega) merupakan metode yang paling efektif dibandingkan dengan metode manual, hal ini berdasarkan hasil kemurnian yang dihasilkan pada isolasi DNA serta efisiensi waktu yang dibutuhkan dalam pengerjaan, akan tetapi biaya yang dikeluarkan jauh lebih mahal dari pada metode manual.

Kata kunci: *Elaeis guineensis* Jacq; isolasi DNA; KIT; manual

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu tanaman yang menduduki posisi penting dalam sektor perkebunan. Hal ini dikarenakan tanaman kelapa sawit menghasilkan minyak sayur yang memiliki nilai ekonomi terbesar per hektarnya di dunia selain kedelai, kanola, biji bunga matahari dan beberapa komoditi lainnya [1]. Kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) adalah tanaman monokotil yang termasuk ordo Arcales kemudian famili Palmae dan subfamili Cocosideae. Tanaman ini termasuk dalam satu genus Cocos dengan kelapa [2].

Kelapa sawit memiliki siklus pemuliaan yang panjang, sekitar 10 tahun, satu tahun untuk polinasi, dua hingga tiga bulan untuk persiapan dan germinasi benih, tiga tahun di lapangan sebelum panen dan empat hingga enam tahun untuk evaluasi panen. Jika ditambahkan dengan uji progeni, waktu yang dibutuhkan mendekati 20 tahun untuk mengembangkan progeni yang telah teruji. Pemuliaan kelapa sawit memiliki beberapa tujuan utama: (1) meningkatkan hasil minyak, (2) tanaman yang pendek, (3) peningkatan kualitas minyak, (4) ketahanan terhadap penyakit, (5) sifat-sifat fisiologis, (6) eksploitasi interaksi genotype dan lingkungan [3].

Untuk membantu memotong siklus pemuliaan yang panjang, metode seleksi berbasis DNA digunakan untuk meningkatkan efisiensi dan presisi dalam studi gen. Seleksi DNA lebih dapat diandalkan daripada seleksi konvensional yang berbasis fenotipe, karena fenotipe dipengaruhi oleh lingkungan dan genotype [2].

Pemuliaan konvensional memiliki beberapa keterbatasan, diantaranya waktu yang diperlukan untuk memasukkan gen-gen yang diinginkan dan jumlah genotype yang harus ditangani pada saat awal-awal seleksi yang besar sehingga membutuhkan tenaga kerja dalam jumlah besar. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan teknologi baru untuk membantu meringankan pekerjaan pemuliaan tanaman, salah satunya penggunaan marka molekuler [4].

Teknologi DNA berkembang dengan pesatnya pada beberapa dekade terakhir. Telah ditemukan beberapa teknik marka DNA yang dapat digunakan untuk analisis sidik jari DNA dan marka yang diperbentuk dalam proses seleksi. Diantaranya, *Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Simple Sequence Repeat* (SSR) dan *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Masing-masing teknik tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan, sehingga pemilihan teknik yang digunakan dalam analisis DNA dapat disesuaikan dengan tujuan dan ketersediaan sumber daya [5].

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat perbandingan antara kualitas DNA daun kelapa sawit yang dikerjakan menggunakan metode KIT (promega) dan metode KIT, serta mengetahui efektivitas kedua metode tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya mortar, alu, tabung micro tube 2ml dan 1,5ml, pipet tetes, vortex, sentrifus, waterbath, freezer, bead, tissue lyser, autoclave, daun tombak (daun muda kelapa sawit), buffer CTAB, mercaptoethanol, Na-asetat, etanol 70%, buffer TE, Nuclei Lysis Solution, Protein Precipitation Solution, isopropanol, ddH₂O.

Isolasi Daun Metode Manual

metode ini merupakan metode konvensional dimana efisiensi waktu yang dibutuhkan cukup lama akan tetapi tidak mengeluarkan biaya yang besar.

Isolasi Daun Metode KIT (Promega)

metode ini merupakan metode menggunakan kit ekstraksi dna (*wizard genomic dna purification*, promega). Metode ini merupakan metode yang dikeluarkan oleh promega corporation dan teruji hasilnya, namun disisi lain biaya yang dibutuhkan cukup besar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

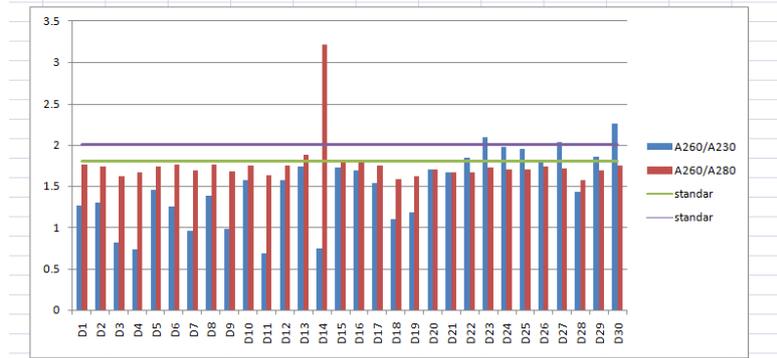
Pengenceran DNA kerja daun (KIT dan Manual)

Analisis DNA dimulai dengan melakukan ekstraksi DNA total dari tanaman kelapa sawit bagian daun dengan menggunakan metode Kit dan Manual. Bagian tanaman yang diambil adalah bagian daun muda (daun tombak), alasan digunakan organ daun dari tanaman sawit karena bagian ini lebih mudah diekstrak secara teknik daripada bagian tanaman lain seperti akar, batang dan biji.

Pemurnian DNA dilakukan dengan etanol dan isopropanol. Larutan tersebut dapat mengendapkan DNA sedangkan kontaminan yang lain tetap larut [6]. Penambahan Na-asetat berfungsi untuk membantu memekatkan dan mengendapkan DNA. Pencucian endapan DNA dengan etanol 70% bertujuan memisahkan senyawa-senyawa yang masih menempel pada DNA. Pemurnian DNA dari kontaminan RNA dilakukan menggunakan enzim RNase yang berfungsi mendegradasi RNA sehingga dihasilkan DNA murni yang terbebas dari RNA dan siap digunakan sebagai cetakan DNA saat PCR.

Kualitas DNA diuji dengan melihat konsentrasi dan kemurniannya. DNA diukur dengan Biodrop pada panjang gelombang A260/230 dan A260/280.

Pengenceran DNA Metode KIT (Promega)

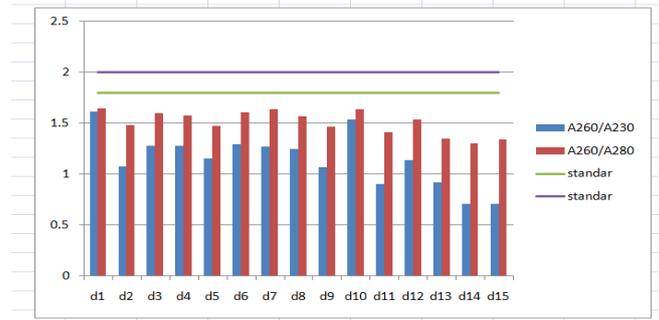


Grafik 1. DNA kerja daun (Kit)

Pada hasil yang ditunjukkan grafik DNA kerja daun dengan metode Kit kemurnian DNA yang diperoleh berkisar antara 1,579 – 3,226 pada panjang gelombang λ 260/280. Dari 30 sampel DNA daun metode Kit sebanyak 3 sampel memiliki nilai kemurnian 1,8 – 2,0 yang menunjukkan DNA yang diisolasi telah murni [7]. Sampel tersebut yaitu sampel D13, D15 dan D16. Akan tetapi, ada juga nilai kemurnian sampel DNA di bawah 1,8 yaitu sampel D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D17, D18, D19, D20, D21, D22, D23, D24, D25, D26, D27, D28, D29, D30. Sedangkan untuk sampel dengan nilai kemurnian tertinggi yang lebih dari 2,0 yaitu sampel D14 yang menunjukkan nilai kemurnian 3,226.

Pada panjang gelombang λ 260/230 angka kemurnian DNA kerja daun metode Kit diperoleh berkisar antara 0,694 – 2,261. Dari 30 sampel DNA daun metode Kit sebanyak 3 sampel yang memiliki nilai kemurnian 1,8 – 2,0 yang menunjukkan DNA yang diisolasi memiliki nilai cukup murni [7]. Untuk sampel yang memiliki nilai kemurnian rendah yaitu sampel D11 dimana nilai kemurnian hanya 0,694 dan kemurnian tertinggi yaitu sampel D30 yang menunjukkan nilai kemurnian sebesar 2,261.

Pengenceran DNA Daun Metode Manual



Grafik 2. DNA kerja daun (Manual)

Untuk hasil yang ditunjukkan grafik DNA kerja daun dengan metode manual pada panjang gelombang λ 260/280 kemurnian DNA yang diperoleh berkisar antara 1,299 – 1,646. Dari 15 sampel DNA daun metode manual tidak satupun sampel yang menunjukkan nilai kemurnian hingga 1,8. Nilai kemurnian



DNA daun tertinggi pada metode manual dengan panjang gelombang $\lambda 260/280$ yaitu 1,646 pada sampel d1 dan nilai kemurnian terendah pada metode manual yaitu 1,299 pada sampel d14. Hal ini menunjukkan bahwa sampel DNA daun yang menggunakan metode manual belum cukup murni.

Sedangkan untuk nilai kemurnian DNA daun metode manual pada panjang gelombang $\lambda 260/230$ sama dengan panjang gelombang $\lambda 260/280$ tidak satupun sampel yang menunjukkan nilai kemurnian 1,8 - 2,0. Nilai kemurnian DNA tertinggi yaitu 1,615 pada sampel d1 dan nilai kemurnian DNA terendah yaitu 0,707 pada sampel d14.

KESIMPULAN

Ada banyak metode yang digunakan dalam isolasi DNA diantaranya metode yang digunakan dalam perbandingan antara kualitas DNA daun kelapa sawit adalah metode KIT (Wizard DNA Extraction Promega dengan modifikasi) serta metode manual CTAB (N-Cetyl, N-Trimethyl-Ammoniumbromide). Dimana masing-masing dari metode tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan tersendiri. Pada metode KIT (Promega dengan modifikasi) memiliki kekurangan dalam hal biaya yang diperlukan cukup mahal. Untuk metode manual (CTAB) memiliki kekurangan dalam efisiensi waktu yang diperlukan lebih lama dibandingkan dengan metode KIT (Promega dengan modifikasi). Metode KIT merupakan metode yang tepat digunakan untuk melakukan pengujian DNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada PT. Sampoerna Agro Tbk. melalui anak perusahaan PT. Bina sawit Makmur dan semua pihak yang memberikan dukungan dalam penulisan artikel ini, baik dukungan moril, tenaga, ilmu, dana maupun doa.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] S. H. Nasution, C. Hanum, and J. Ginting, "PERTUMBUHAN BIBIT KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) PADA BERBAGAI PERBANDINGAN MEDIA TANAM SOLID DECANTER DAN TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT PADA SISTEM SINGLE STAGE," *J. Agroekoteknologi Univ. Sumatera Utara*, vol. 2, no. 2, pp. 691-701, 2014.
- [2] S. Pascasarjana, "Keragaman genetik kelapa sawit asal nigeria dan asosiasi marka mikrosatelit (ssr) dengan karakter," 2014.
- [3] P. Studi, I. Farmasi, F. Farmasi, and U. A. Jakarta, "PEMBERIAN PELATIHAN ISOLASI DNA TANAMAN KELAPA SAWIT DAN APLIKASI METODE ANALISIS SSR (SIMPLE SEQUENCE REPEAT) DI PT SOCFINDO , MEDAN SUMATERA UTARA," vol. 1, no. 1, pp. 5-11, 2018.
- [4] R. Nurjasm, P. S. Agroteknologi, F. Pertanian, and U. R. Indonesia, "(1), 2)," vol. 11, no. 2, pp. 713-717, 2017.
- [5] S. Pascasarjana, "Sekolah pascasarjana institut pertanian bogor bogor 2018," 2018.
- [6] Y. Mulyani, A. Purwanto, and I. Nurruhwati, "Perbandingan Beberapa Metode Isolasi Dna Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (Khv) Pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L.)," *J. Akuatika Indones.*, vol. 2, no. 1, p. 244185, 2011.
- [7] A. Syahputra, K. H. Mutaqin, and T. A. Damayanti, "Komparasi Metode Isolasi DNA Patogen Antraknosa dan Bulai untuk Deteksi PCR," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 12, no. 4, p. 124, 2016.