



## Perbandingan Kualitas DNA Embrio Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) pada Ratio 260/230 dan 260/280

Mutiara Islami<sup>1\*</sup>, Awalul Fatiqin<sup>1</sup>, Pratiwi Erika<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, Indonesia

<sup>2</sup>PT Bina Sawit Makmur Palembang, Indonesia

\*e-mail korespondensi: mutiaraislami0@gmail.com

**Abstract.** For the sustainability of world oil palm, it is necessary to conduct intensive breeding through genetic diversity studies in an effort to ensure the availability of planting material with high productivity. In plant breeding, it is necessary to check the quality of the DNA in the samples used, so this research was conducted to see the value of the purity of the embryonic DNA of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) at the ratio  $\lambda 260 / 230$  and  $\lambda 260 / 280$ . This research was conducted at the Molecular Breeding laboratory of PT. Bina Sawit Makmur Palembang on 1-31 August 2019. DNA isolation of oil palm embryos was carried out using the KIT method (promega), with the stages of destruction (lysis), extraction, separation of DNA from solid materials such as cellulose and protein, and DNA purification. The results showed that at  $\lambda 260 / 230$  the purity values ranged from 0.47 to 3.039, 8 samples reached a purity value of 2-2.2, namely samples E2<sub>3</sub>, E2<sub>5</sub>, E2<sub>8</sub>, E2<sub>9</sub>, E2<sub>12</sub>, E2<sub>18</sub>, E2<sub>37</sub> and E2<sub>42</sub>. The highest purity value in sample E2<sub>10</sub> with a value of 3.039, and the lowest value of 0.47 in the sample E2<sub>16</sub>. For embryonic DNA purity values at  $\lambda 260 / 280$  ranged from 0.719 to 1.806, only one sample reached a purity value of 1.8 - 2.0. From these results, it is known that there are still impurities and protein contaminants contained in the oil palm embryo DNA sample. This can occur due to the inaccurate speed of the extraction process and the deposition of several samples when taking supernatant / pellets per sample.

**Key words :** DNA; embryo; KIT; *Elaeis guineensis* Jacq; Dilution

**Abstrak.** Demi keberlanjutan kelapa sawit dunia, perlu dilakukan pemuliaan yang intensif melalui studi keragaman genetik sebagai upaya menjamin ketersediaan bahan tanam dengan produktivitas yang tinggi. Dalam pemuliaan tanaman perlu dilakukan pengecekan kualitas DNA pada sampel yang digunakan, maka penelitian ini dilakukan guna melihat nilai kemurnian DNA embrio Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) pada ratio  $\lambda 260/230$  dan  $\lambda 260/280$ . Penelitian ini dilakukan di laboratorium Molecular Breeding PT. Bina Sawit Makmur Palembang pada 1-31 Agustus 2019. Isolasi DNA embrio kelapa sawit dilakukan menggunakan metode KIT (promega), dengan tahap penghancuran (lisis), ekstraksi, pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA. Hasil penelitian menunjukkan pada  $\lambda 260/230$  nilai kemurnian berkisar 0,47 – 3,039, 8 sampel yang mencapai nilai kemurnian 2 – 2,2 yaitu sampel E2<sub>3</sub>, E2<sub>5</sub>, E2<sub>8</sub>, E2<sub>9</sub>, E2<sub>12</sub>, E2<sub>18</sub>, E2<sub>37</sub> dan E2<sub>42</sub>. Nilai kemurnian tertinggi pada sampel E2<sub>10</sub> dengan nilai 3,039, dan nilai terendah 0,47 pada sampel E2<sub>16</sub>. Untuk nilai kemurnian DNA embrio pada  $\lambda 260/280$  berkisar 0,719 – 1,806, hanya terdapat satu sampel yang



mencapai nilai kemurnian 1,8 – 2,0. Dari hasil tersebut maka diketahui masih terdapatnya kontaminan pengotor dan protein yang terkandung di dalam sampel DNA embrio kelapa sawit tersebut. Hal ini dapat terjadi karena tingkat kecepatan proses ekstraksi yang kurang tepat dan terjadinya pengendapan beberapa sampel saat pengambilan supernatan/pelet per sampel.

**Kata kunci:** DNA; embrio; KIT; *Elaeis guineensis* Jacq; Pengenceran

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan komoditas yang penting dan sebagai bahan baku serba guna baik pada industri pangan ataupun nonpangan. Beberapa waktu terakhir telah terjadi peningkatan pesat budidaya dan produksi kelapa sawit disebabkan tuntutan dari internasional. Hal ini menyebabkan peningkatan mata pencaharian bagi jutaan orang di Indonesia termasuk pendapatan devisa negara. Pada tahun 2018, luas area perkebunan kelapa sawit di Indonesia mencapai 14,3 Juta Ha, yang terdiri dari petani 5,83 juta Ha (40%), Badan Usaha Milik Negara 0,713 juta Ha (5%) dan Perusahaan Swasta sebesar 7,788 juta Ha (55%) dengan total produksi CPO 37,8 JutaTon/Tahun [1]. Kelapa sawit termasuk ke dalam tanaman monokotil dengan family Arecaceae (palmae) dan genus *Elaeis* [2]

Demi keberlanjutan produksi dan suplai produk kelapa sawit dunia, perlu dilakukan pemuliaan yang intensif melalui studi keragaman genetik sebagai upaya menjamin ketersediaan bahan tanam dengan produktivitas yang tinggi. Ketersediaan keragaman genetik dalam plasma nutfah membantu kegiatan pemuliaan untuk menghasilkan seleksi yang diharapkan [3]. Pemuliaan tanaman merupakan kegiatan untuk mengubah susunan genetik tanaman secara tetap sehingga memiliki sifat atau penampilan sesuai yang diinginkan pemulianya. Bertujuan untuk memperbaiki karakter tanaman yang diwariskan pada suatu populasi dengan sifat genetik baru [4].

Terdapat teknik pemuliaan secara konvensional dengan melakukan persilangan kemudian diidentifikasi dan diverifikasi kemurniaannya berdasarkan sifat morfologinya. Namun teknik ini memiliki beberapa kelemahan seperti membutuhkan waktu yang cukup lama, kesulitan menargetkan gen-gen yang ingin diekspresikan pada morfologi atau agronomi, rendahnya hasil populasi seleksi yang besar dan pautan gen antara sifat yang diinginkan sulit dipisahkan saat persilangan. Dengan kelemahan teknik ini, saat ini pemuliaan tanaman beralih menjadi basis marka molekuler. Aplikasi marka molekuler meningkatkan efisiensi guna analisis kekerabatan, pemerataan gen dan *marker-assisted selection* pada tanaman [4].

Keragaman genetik merupakan informasi bagi kegiatan konservasi, pemuliaan, pemanfaatan sumberdaya genetik dan pengelolaan. Penelitian menggunakan beberapa penanda molekuler seperti analisis RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeats*) [5], SNAP (*Single Nucleotide Amplified Polymorphism*) [6] pemetaan gen maupun sidik jari DNA dapat digunakan untuk melihat tingkat keanekaragaman genetik antar individu. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk melihat perbandingan tingkat kemurnian kualitas DNA embrio kelapa sawit pada 2 rasio panjang gelombang 260/230 dan 260/280.

## METODE PENELITIAN

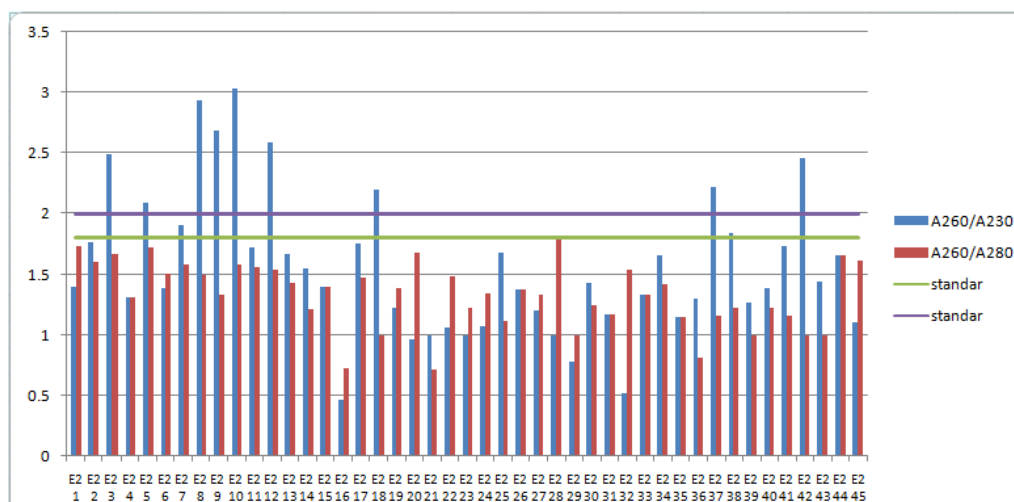
### Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu micropestle, micro tube 1,5 ml dan 2 ml, *automatic pipet*, *vortex*, *centrifuge*, *water bath*, *freezer*, autoclave, tissue lyser, embrio kelapa sawit, Nuclei Lysis Solution, RNase solution, Protein Precipitation Solution, isopropanol, ethanol 70%, ddH<sub>2</sub>O.

### ISOLASI DNA EMBRIO KELAPA SAWIT

Sampel yang digunakan yaitu embrio kelapa sawit, dengan metode isolasi KIT ekstraksi DNA (promega). Tahap isolasi DNA embrio dimulai dengan tahap penghancuran (lisis) yang dilakukan dengan menggerus embrio menggunakan micropestle hingga halus. Lalu tahap ekstraksi dilakukan dengan menambahkan Nuclei Lysis Solution, kemudian lakukan penggojokan dan centrifuge. Setelah sentrifugasi akan terbentuk 2 fase yaitu fase organik pada bagian bawah dan fase aquoeus (air) pada lapisan atas. Ekstrak DNA juga seringkali terkontaminasi oleh RNA sehingga dilakukan penambahan RNase [7]. Selanjutnya dilakukan proses deproteinasi dengan penambahan Protein Precipitation Solution. Setelah proses ekstraksi, DNA dipisahkan melalui presipitasi dengan penambahan isopropanol dan etanol 70%, lakukan sentrifugasi kembali untuk menghilangkan residu. Kemudian setelah dilakukan presipitasi, etanol dibuang dan pellet dikeringkan. Setelah kering tambahkan ddH<sub>2</sub>O (aquabides) dan simpan di dalam freezer Pemurnian DNA.

## HASIL DAN PEMBAHASAN



**Grafik DNA Kerja Embrio Kelapa Sawit**

Pada hasil yang ditunjukkan grafik DNA kerja embrio metode Kit menunjukkan nilai kemurnian pada panjang gelombang  $\lambda 260/230$  berkisar antara 0,47 – 3,039. Dari 45 sampel yang ada hanya ada 8 sampel yang menunjukkan nilai kemurnian 2 – 2,2 yaitu sampel E2 3, E2 5, E2 8, E2 9, E2 12, E2 18, E2 37, E2 42. Untuk nilai kemurnian tertinggi terdapat pada sampel E2 10 yang menunjukkan nilai 3,039 sedangkan nilai kemurnian terendah terdapat pada sampel E2 16 dengan nilai kemurnian 0,47.

Nilai kemurnian DNA embrio menggunakan metode Kit dengan panjang gelombang  $\lambda 260/280$  memiliki nilai berkisar antara 0,719 – 1,806. Dimana hanya ada satu sampel dari 45 sampel yang ada yang mencapai nilai kemurnian 1,8 – 2,0. Prinsip dasar



perhitungan nilai kemurnian DNA adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid apalagi suspensi. DNA yang mengandung basa-basa purin dan pirimidin dapat menyerap cahaya UV pada rasio 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau phenol dapat menyerap cahaya pada rasio 280 nm. Dan rasio 230 merupakan rasio kontaminan pengotor [8]

Konsentrasi DNA akan berdampak pada kualitas fragmen hasil amplifikasi. Konsentrasi DNA yang terlalu rendah akan menghasilkan fragmen yang sangat tipis pada gel atau bahkan tidak terlihat secara visual. Sebaliknya konsentrasi DNA yang terlalu tinggi akan menyebabkan fragmen terlihat tebal sehingga sulit dibedakan antara satu fragmen dengan fragmen lainnya [9]. Besar konsentrasi hasil ekstraksi DNA dipengaruhi oleh dua faktor pendukung diantaranya yaitu kecepatan ekstraksi pada saat proses ekstraksi dan komposisi penambahan lisis buffer. Faktor kecepatan ekstraksi merupakan faktor paling berpengaruh karena pada tahap lisis sel dan presipitasi pengambilan supernatant harus dilakukan per sampel, sehingga beberapa sampel terjadi pengendapan DNA [10]. Untuk DNA embrio menggunakan metode Kit terdapat 8 sampel murni pada panjang gelombang  $\lambda 260/230$  lebih banyak daripada panjang gelombang  $\lambda 260/280$  yang memiliki 1 sampel murni.

## KESIMPULAN

Kualitas DNA embrio kelapa sawit yang dilakukan dengan menggunakan metode KIT pada panjang gelombang 260/230 menunjukkan nilai kemurnian dengan rerata 2 hingga 2,2 pada 8 sampel dari 45 sampel, sedangkan pada panjang gelombang 260/280 hanya terdapat satu sampel yang mencapai nilai kemurnian 1,8-2,0. Hal ini menunjukkan masih terdapat faktor yang mempengaruhi konsentrasi DNA terutama pada proses isolasi DNA atau ekstraksi, baik karena ukuran sampel yang sangat kecil memungkinkan sampel terbawa oleh buffer, hingga komposisi buffer yang digunakan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PT. Bina Sawit Makmur (Sampoerna Agro Tbk) sebagai tempat dilakukannya penelitian dan penyandang biaya penelitian, pembimbing serta semua pihak yang membantu dalam pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] I. S. P. O. Commission, *The Progress Of ISPO System and Outlook*, Jakarta: Ministry of Agriculture, 2020.
- [2] P. I, *Manajemen Agribisnis dari Hulu Hingga Hilir*, Jakarta: Penebar Swadaya, 2011.
- [3] U. W. N. T.-M. Urip Sayekti, "Keragaman Genetik Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Asal Angola Menggunakan Marka SSR," *Jurnal Agron*, vol. 43, no. 2, pp. 140-146, 2015.
- [4] D. Nuraida, "Pemuliaan Tanaman Cepat dan Tepat Melalui Pendekatan Marka Molekuler," *Pemuliaan Tanaman Cepat*, vol. 2, no. 2, pp. 97-103, Maret 2012.
- [5] I. K. J. E. K. Ni Luh Putu Rika Sugiantari, "Analisis Keragaman Genetik Kelapa Rangka (*Cocos nucifera* L.) di Bali Berdasarkan Penanda DNA Mikrosatelit," *Jurnal Simbiosis III*, pp. 334-337, 2015.



- [6] I. M. D. S. S. Freta Kirana Balladona, "Pengembangan Penanda Molekuler Berdasarkan Situs SNP dan Indel Genom Kloroplas Kelapa," *Jurnal Agronida*, vol. 6, no. 1, pp. 1-13, 2020.
- [7] e. a. Birren B, *Genome Analysis : A Laboratory Manual Volume 1*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.
- [8] F. E. L, *Prinsip Dasar Analisa*, Jakarta: Erlangga, 2011.
- [9] N. H. A. N. T. A. Haris, "Kemiripan Genetik Klon Karet (*Havea brasiliensis* Muell Arg) Berdasarkan Metode Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP)," *Menara Perkebunan 71(1)*, pp. 1-15, 2003.
- [10] Komalasari, *Pengaruh Perbandingan Volume Darah dan Lisis Buffer Serta Kecepatan Terhadap Kualitas Produk DNA Pada Sapi Friesian Holstein (FH) [skripsi]*, Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2009.