

“Membangun Sinergi antar Perguruan Tinggi dan Industri Pertanian dalam Rangka Implementasi Merdeka Belajar Kampus Merdeka”

[Optimasi Protokol Ekstraksi DNA Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada Umur Tanaman yang Berbeda] : Review

Muhammad Ilham Sadikin, Tantri Swandari, Fariha Wilisiani

Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian STIPER Yogyakarta

Abstrak

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman yang mempunyai peran besar terhadap perekonomian Indonesia, yakni sebagai penyumbang terbesar devisa negara. Besarnya pengaruh kelapa sawit terhadap perekonomian Indonesia, maka perlu upaya untuk memperbaiki karakter tanaman kelapa sawit baik secara konvensional maupun modern. Salah satu informasi yang penting untuk mendukung upaya tersebut adalah melalui penggalian informasi genetik tanaman yang diawali dengan proses ekstraksi DNA. Kualitas serta kuantitas DNA yang baik akan menjadi faktor utama dalam keberhasilan proses penggalian informasi genetik. Dengan demikian, dilakukan penelitian ini supaya diperoleh protokol ekstraksi DNA yang tepat pada beberapa umur tanaman kelapa sawit (*pre nursery* dan *main nursery*). Metode yang digunakan adalah metode Doyle & Doyle (1990) yang dimodifikasi dengan menggunakan 1% dan 2% larutan mercaptoethanol. Tiap sampel yang diekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa Ekstraksi DNA modifikasi 2 menghasilkan kualitas dan kuantitas DNA lebih baik dibandingkan modifikasi 1 serta modifikasi tersebut cocok digunakan pada sampel daun muda tanaman kelapa sawit *pre nursery* dan *main nursery*, yang dibuktikan dengan analisis secara kuantitatif berupa tingkat konsentrasi dan nilai kemurnian yang tinggi serta visualisasi pita DNA yang diperoleh terlihat cukup jelas dan menghasilkan kemurnian DNA yang cukup baik pada kedua sampel tersebut.

Kata kunci: Ekstraksi DNA; CTAB; daun; kelapa sawit

Pendahuluan

Kelapa sawit merupakan komoditas yang dibudidayakan secara komersial dan berperan penting dalam kegiatan perekonomian Indonesia. Pasalnya, kelapa sawit sebagai salah satu komoditas ekspor Indonesia memiliki peran terhadap penghasil devisa selain minyak dan gas bumi dengan nilai US\$ 18,9 miliar atau senilai Rp. 265 triliun (Subdirektorat Statistik Tanaman Perkebunan, 2018).

Pemasaran kelapa sawit tidak hanya berpeluang sebagai komoditas ekspor saja, tetapi di dalam negeri juga berpotensi untuk menyerap minyak sawit (CPO) dan minyak inti sawit (PKO), terkhusus pada industri fraksinasi, terutama pada industri minyak goreng, lemak khusus (*cocoa butter substitute*), margarine, *oleochemical*, dan sabun mandi (Badan Pusat Statistik, 2018). Kelapa sawit juga digunakan sebagai alternatif energi. Pemerintah merencanakan pada tahun 2020 untuk menggunakan CPO sebagai bahan campuran biodiesel, dengan kelapa sawit dan solar sebesar 40% atau B40 (GAPKI, 2020).

Tingginya potensi dalam penggunaan kelapa sawit dikarenakan tanaman ini berperan sebagai penghasil minyak sayur utama dunia (39,9%) selain kedelai (26,6%), kanola (14,9%), biji dari bunga matahari (8,8%) dan beberapa komoditi lainnya (Anonim, 2014). Corley dalam (Aulia et al., 2017) menjelaskan pada tahun 2050 nanti, permintaan minyak nabati akan meningkat dengan permintaan yang diperkirakan mencapai 240 juta ton minyak nabati pada 2050. Tetapi, kelapa sawit mampu untuk memenuhi permintaan dari jumlah kebutuhan minyak nabati tersebut. Peran kelapa sawit sebagai tanaman penghasil minyak nabati utama dunia disebabkan oleh keunggulan dari kelapa sawit yang mampu menghasilkan produksi minyak paling tinggi dibandingkan dengan minyak nabati lainnya.

Sebagai tanaman industri penghasil devisa negara, maka perlu perhatian yang lebih serius terhadap kelapa sawit, yang dimulai dengan melakukan penelitian yang lebih detail tentang tanaman tersebut. Penelitian yang dilakukan tidak hanya sebatas konvensional, tetapi perlu ditingkatkan sampai ke level molekuler. Hal ini sangat membantu dalam memberikan data atau informasi tentang kelapa sawit secara lebih komprehensif. Dengan diperolehnya informasi tentang kelapa sawit secara lebih detail dan rinci, maka dapat dilakukan peningkatan kualitas dan kuantitas produksi CPO serta KPO tanaman kelapa sawit salah satunya dengan cara penggunaan bahan tanam unggul, yang diperoleh dengan perakitan varietas baru. Nantinya diharapkan dapat memenuhi kebutuhan CPO dan KPO skala nasional maupun global.

Salah satu cara untuk mendapatkan bahan tanam unggul kelapa sawit dapat dilakukan dengan teknologi rekayasa genetika (*genetic engineering*). Dalam teknologi rekayasa genetik, dilakukan proses penyisipan suatu gen tertentu ke dalam sel jasad target, sehingga yang terlebih dahulu dilakukan adalah mengekstraksi DNA yang mencakupi gen yang dimaksud (Yuwono, 2006).

Tahapan ekstraksi DNA merupakan salah satu tahap penting dalam teknik rekayasa genetik. Permasalahan yang sering muncul dalam kegiatan ekstraksi DNA pada tanaman adalah kehadiran senyawa kontaminan pada sampel yang diekstraksi seperti senyawa polisakarida, polifenol, protein, RNA dan senyawa metabolit sekunder (Arham et al., 2013).

Permasalahan lainnya adalah belum ada laporan khusus mengenai protokol ekstraksi DNA berbagai jenis tanaman secara komprehensif, terkhususnya pada tanaman kelapa sawit. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh protokol ekstraksi DNA tanaman kelapa sawit.

Metodologi

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Juli 2020, di Laboratorium Pusat Instiitui Pertanian STIPER Yogyakarta dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, timbangan analitik, mikropipet, pipet tip, thermometer, falcon, erlenmeyer, *waterbath*, mortar, *microtube*, vortex, *centrifuge*, elektroforesis, spektrofotometer, kuvet, *Gel-Doc*, cetakan sisir, dan *microwave*. Bahan yang digunakan adalah sampel daun muda dan tua tanaman kelapa sawit varietas Simalungun fase pembibitan *pre nursery* dan *main nursery*, CTAB, merkaptoetanol, CIAA, plastik klip, isopropanol, sodium asetat, aquabidest, air, etanol 70%, *loading dye*, *ethidium bromide*, agarosa, ddH₂O, *buffer 1 x TBE*, dan tisu. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode Doyle & Doyle (1990) yang dimodifikasi dengan menggunakan 1% dan 2% larutan merkaptoethanol. Tiap sampel yang diekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Sampel daun diambil dan dicuci hingga bersih dengan menggunakan air mengalir. Kemudian *Buffer* ekstraksi CTAB (yang sudah ditambahkan 1% dan 2% merkaptoetanol) dipanaskan di *waterbath* pada suhu 65⁰ C selama 30 menit. CTAB yang digunakan setiap sampel sebesar 900 µl per sampel. Sampel daun yang telah dicuci, kemudian ditimbang dengan berat 0,1 g. Selanjutnya sampel daun digerus hingga lembut menggunakan mortar, tambahkan larutan *buffer* CTAB dan campur hingga rata, kemudian dimasukkan ke dalam *microtube*. Campuran hasil gerusan dan *buffer* tersebut diinkubasi pada suhu 65⁰ C selama 60 menit kemudian didiamkan hingga dingin. Selanjutnya setiap sampel ditambahkan 500 µl CIAA. Campur dengan baik kemudian divortex selama 5 menit dan disentrifugasi selama 15 menit pada 12.000 rpm.

Keluarkan supernatan yang terbentuk dengan hati-hati, pindahkan ke *microtube* baru, dan catat volumenya. Kemudian tambahkan sodium asetat 3M sebanyak 1/10 dari volume supernatan. Setelah itu tambahkan isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume total (supernatan + sodium asetat), campur dengan baik kemudian didiamkan di dalam freezer selama ± 12 jam.

Centrifuge lagi pada 12.000 rpm selama 10 menit. Kemudian buang cairan dan cuci endapan DNA dengan menambahkan 500 µl etanol 70%, bolak-balik *microtube*. Selanjutnya centrifuge lagi selama 5 menit pada 12.000 rpm. Buang cairan dan endapan DNA dikeringanginkan. Setelah kering, endapan DNA dilarutkan kembali dengan 100 µl aquabidest

Hasil Dan Pembahasan

A. Konsentrasi Dna

Ekstraksi DNA tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) menggunakan metode Doyle & Doyle (1990) yang dimodifikasi dengan membandingkan persentase larutan mercaptoethanol 1 % dan 2 %. Sampel yang digunakan adalah daun muda dan tua kelapa sawit fase pembibitan *pre nursery* dan *main nursery*. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga ada 24 sampel yang diekstraksi dan dianalisis.

Tabel 1. Konsentrasi DNA tanaman kelapa sawit ($\mu\text{g/ml}$) metode ekstraksi modifikasi 1 dan 2

Modifikasi Ekstraksi DNA	Sampel	Ulangan			Rata-Rata Konsentrasi ($\text{ng}/\mu\text{l}$)
		1	2	3	
Modifikasi 1	PN Daun Muda	2200	1300	800	1433
	PN Daun Tua	1300	800	800	966
	MN Daun Muda	900	300	300	500
	MN Daun Tua	1300	500	700	833
Modifikasi 2	PN Daun Muda	900	1800	1000	1233
	PN Daun Tua	500	2800	1200	1500
	MN Daun Muda	500	1000	900	800
	MN Daun Tua	1100	1000	2700	1600

Tabel 1 menunjukkan bahwa secara kuantitatif metode ekstraksi DNA menghasilkan rata-rata konsentrasi DNA yang bervariasi dan berkisar pada konsentrasi 500-1600 $\text{ng}/\mu\text{l}$. Tabel 2 juga menunjukkan bahwa secara kuantitatif metode ekstraksi modifikasi 1 menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih besar (1433 $\text{ng}/\mu\text{l}$) daripada modifikasi 2 (1233 $\text{ng}/\mu\text{l}$) pada sampel daun muda kelapa sawit *pre nursery*. Hasil tersebut berbeda pada sampel daun tua kelapa sawit, secara kuantitatif metode ekstraksi modifikasi 2 menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih besar (1500 $\text{ng}/\mu\text{l}$) daripada modifikasi 1 (966 $\text{ng}/\mu\text{l}$). Pada sampel daun muda kelapa sawit *main nursery*, metode ekstraksi modifikasi 2 menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih besar (800 $\text{ng}/\mu\text{l}$) daripada modifikasi 1 (500 $\text{ng}/\mu\text{l}$). Begitu juga pada sampel daun tua kelapa sawit *main nursery*, konsentrasi DNA yang dihasilkan dari metode 2 menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih besar (1600 $\text{ng}/\mu\text{l}$) daripada modifikasi 1 (833 $\text{ng}/\mu\text{l}$). Berdasarkan hasil kuantitatif jumlah konsentrasi DNA pada tabel 2, menunjukkan bahwa modifikasi 2 (2 % mercaptoethanol) cocok untuk digunakan pada sampel daun tua *pre nursery* serta sampel daun muda dan tua *main nursery*.

Tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan pada proses ekstraksi DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor. Perlakuan suhu dan lama inkubasi pada proses ekstraksi berpengaruh terhadap jumlah konsentrasi yang dihasilkan, sehingga perlu dilakukan penyesuaian dengan jenis sampel tanaman yang digunakan. (Langga, Restu & Kuswinanti, 2012). Setelah dilakukan pemecahan pada dinding sel, sampel yang dicampur dengan larutan lisis *buffer* diinkubasi pada suhu tertentu. Ruchi, et al. (2018) menyatakan bahwa larutan tersebut berfungsi untuk menghancurkan jaringan dan membran sel serta mengeliminasi kontaminan, sehingga yang didapatkan pada tahapan ini adalah DNA inti dan DNA mitokondria. DNA akan rusak jika suhu inkubasi yang digunakan terlalu tinggi sedangkan pada suhu yang terlalu rendah maka membran serta jaringan sel tidak dapat hancur. Lama inkubasi juga berpengaruh kepada konsentrasi. Oleh karena itu suhu dan waktu inkubasi harus disesuaikan pada waktu yang sesuai agar konsentrasi DNA hasil ekstraksi dapat diperoleh sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan.

Selain itu, menurut Komalasari (2009) kecepatan sentrifugasi berpengaruh terhadap tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan. Sentrifugasi pada 10.000 rpm menghasilkan konsentrasi DNA rata-rata yang relatif tinggi dibandingkan pada kecepatan sentrifugasi 12.000 rpm. Sentrifugasi pada saat ekstraksi DNA berfungsi untuk memisahkan DNA dan komponen lainnya, tetapi kemungkinan DNA dapat tercampur dengan komponen lain, seperti lipid, protein, RNA, dan polisakarida pada putaran sentrifugasi yang lebih cepat. Oleh karena itu kecepatan dan durasi sentrifugasi pada proses ekstraksi harus dipertimbangkan.

Terdapatnya kandungan senyawa seperti seperti protein, polisakarida, dan fenol serta metabolit sekunder yang terkandung pada sampel tanaman, dapat mempengaruhi kualitas dan kemurnian DNA (Ediwirman & Mansya, 2009). Tanaman kelapa sawit mengandung polisakarida dan polifenol yang tinggi, sehingga dalam proses ekstraksi diperlukan optimasi metode yang mampu menghasilkan konsentrasi yang baik (Sari et al., 2019). Penggunaan larutan mercaptoethanol dalam proses ekstraksi berfungsi untuk mereduksi senyawa-senyawa fenolik pada DNA (Syafaruddin et al., 2011).

B. Kemurnian Dna

Tabel 2. Kemurnian DNA kelapa sawit pada absorbansi 260 nm dan 280 nm dengan metode ekstraksi DNA modifikasi 1 dan 2.

Modifikasi Ekstraksi DNA	Sampel	Ulangan			Rata-Rata Kemurnian DNA (A_{260}/A_{280})
		1	2	3	
Modifikasi 1	PN Daun Muda	1,467	1,000	1,600	1,36

	PN Daun Tua	1,440	2,000	2,000	1,81
	MN Daun Muda	2,250	1,500	1,500	1,75
	MN Daun Tua	1,857	2,500	1,750	2,04
Modifikasi 2	PN Daun Muda	1,800	1,800	2,000	1,87
	PN Daun Tua	2,500	1,867	2,000	2,12
	MN Daun Muda	1,000	2,000	2,250	1,75
	MN Daun Tua	1,833	2,000	1,800	1,88

Tabel 2 menunjukkan bahwa secara kuantitatif metode ekstraksi DNA menghasilkan rata-rata kemurnian DNA yang bervariasi yakni pada nilai kemurnian 1,36-2,12 (A260/A280). Secara kuantitatif metode ekstraksi modifikasi 2 menghasilkan kemurnian DNA yang lebih besar (1,87 A260/A280) daripada modifikasi 1 (1,36 A260/A280) pada sampel daun muda kelapa sawit *pre nursery*. Hasil tersebut juga sama pada sampel daun tua kelapa sawit, secara kuantitatif metode ekstraksi modifikasi 2 menghasilkan kemurnian DNA yang lebih besar (2,12 A260/A280) daripada modifikasi 1 (1,81 A260/A280). Pada sampel daun muda kelapa sawit *main nursery*, metode ekstraksi modifikasi 1 secara kuantitatif menghasilkan kemurnian DNA yang sama (1,75 A260/A280) dengan modifikasi 2 (1,75 A260/A280). Hasil tersebut berbeda pada sampel daun tua kelapa sawit, secara kuantitatif metode ekstraksi modifikasi 1 menghasilkan kemurnian DNA yang lebih besar (2,04 A260/A280) daripada modifikasi 2 (1,88 A260/A280).

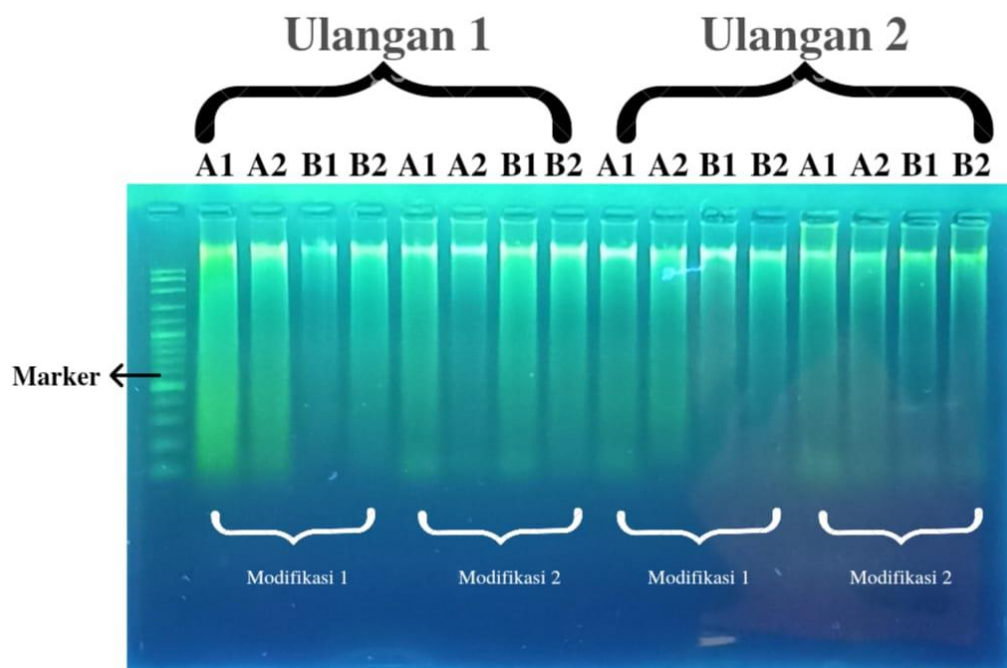
Berdasarkan hasil kuantitatif tingkat kemurnian DNA yang ditunjukkan pada tabel 2, secara keseluruhan tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi tergolong baik. Hal ini dibuktikan dari seluruh sampel yang dianalisis, rata-rata rasio nilai kemurnian DNA diperoleh lima sampel memiliki nilai kemurnian berkisar pada 1,8 – 2,0. Lima sampel tersebut diperoleh dari modifikasi 1 sampel daun tua *pre nursery* (1,81 A260/A280), modifikasi 1 sampel daun tua *main nursery* (2,04 A260/A280), modifikasi 2 sampel daun muda *pre nursery* (1,87 A260/A280), modifikasi 2 sampel daun tua *pre nursery* (2,12 A260/A280), dan modifikasi 2 sampel daun tua *main nursery* (1,88 A260/A280). Dari lima sampel yang tergolong memiliki tingkat kemurnian yang baik yang ditunjukkan pada tabel 3, tiga sampel diperoleh dari penggunaan modifikasi 2 (2 % mercaptoethanol) serta menunjukkan bahwa modifikasi tersebut cocok untuk digunakan pada sampel daun muda dan tua *pre nursery* serta daun tua *main nursery*. Untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA dapat ditentukan berdasarkan rasio antara nilai OD260 dan OD280 pada sampel DNA yang dianalisis dengan

alat spektrofotometer. Molekul DNA dikatakan murni apabila rasio kedua nilai berkisar antara 1,8 – 2,0 (Muladno, 2010).

Penggunaan mercaptoethanol dalam proses ekstraksi mampu untuk meningkatkan kemurnian DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi. Peran mercaptoethanol adalah menghilangkan polifenol yang terikat pada DNA (Utami et al., 2012). Daun tanaman kelapa sawit diketahui memiliki kandungan senyawa polifenol (flavonoid) (Sasidharan, 2010). Bahkan menurut NgMei dan ChooYuen(2010) dalam Arham et al., (2013) mengatakan bahwa dalam ekstrak daun kelapa sawit terkandung fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun kelapa segar. Sehingga penelitian ini membuktikan bahwa penambahan volume mercaptoethanol sebesar 2 % (modifikasi 2) mampu untuk mengoptimalkan proses ekstraksi, dikarenakan tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan metode modifikasi tersebut diperoleh nilai kemurnian yang cukup baik.

Tingkat kemurnian DNA yang merupakan salah satu indikator keberhasilan proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis tumbuhan dan kandungan pada tumbuhan tersebut. Perlakuan suhu dan waktu yang digunakan pada setiap tumbuhan berbeda-beda. Selain itu, hasil dari proses ekstraksi DNA juga dipengaruhi oleh kandungan polifenol dan metabolit sekunder lainnya seperti tanin dan terpen yang dapat menurunkan kemurnian DNA (Retnaningati, 2020).

C. Kualitas Dna



Gambar 1. Visualisasi molekul DNA dengan elektroforesis; (A) kelapa sawit *pre nursery*, (B) Kelapa sawit *main nursery*, (1) Sampel daun tanaman kelapa sawit muda, (2) Sampel daun tanaman kelapa sawit tua

Berdasarkan hasil visualisasi molekul DNA dengan elektroforesis, gambar 1 menunjukkan bahwa pada gel agarose pita DNA terlihat cukup jelas dan menghasilkan kemurnian DNA yang cukup baik. Hal ini berarti bahwa proses ekstraksi DNA genom berhasil dilakukan dengan dengan tepat, meskipun pada beberapa sampel masih terdapat smear. Sampel yang memiliki kualitas DNA kurang baik ditunjukkan pada visualisasi pita DNA sampel A1 (modifikasi 1, ulangan 1, sampel daun muda kelapa sawit *pre nursery*). Hal ini dilihat dari pita DNA yang dihasilkan tebal dan memanjang serta mengindikasikan bahwa pita DNA tersebut mengandung smear. Pada sampel A2 (modifikasi 1, ulangan 1, sampel daun tua kelapa sawit *pre nursery*) secara visual juga menunjukkan hasil yang kurang baik, tetapi pita DNA yang terlihat tidak setebal sampel A1 (modifikasi 1, ulangan 1, sampel daun muda kelapa sawit *pre nursery*). Selain kedua sampel tadi, pita DNA yang dihasilkan pada sampel lain memiliki kualitas DNA yang cukup baik, karena secara visual pita DNA terlihat jelas dan mengindikasikan terdapat sedikit bahan pengotor.

Penyebab terbentuknya smear pada pita DNA akibat dari adanya senyawa lain yang merupakan sisa dari hasil ekstraksi, DNA yang terdegradasi serta hasil ekstraksi masih memiliki kandungan RNA yang belum sepenuhnya hilang (Ediwirman & Mansya, 2009). Mawardi & Simonapendi (2016) menyatakan bahwa proses purifikasi DNA dengan kloroform : isoamil alkohol (CIAA) yang tidak sempurna dapat menyebabkan masih terdapatnya kontaminan pada DNA pada hasil ekstraksi. Fungsi dari CIAA adalah untuk memurnikan DNA dari protein, dengan cara mengendapkan protein tersebut. Selain itu penyebab lainnya adalah proses pencucian DNA yang tidak sempurna dengan etanol *pellet* sehingga isopropanol masih terkandung pada DNA. Fungsi dari Isopropanol adalah untuk mengendapkan DNA dan fungsi dari etanol adalah untuk menghilangkan sisa isopropanol dari *pallet* DNA.

Menurut Irnawati (2003) dalam Bagaskara et al. (2018) menyatakan bahwa pita DNA yang tebal dan tidak tersebar (mengumpul) menunjukkan konsentrasi tinggi, dan total DNA yang diekstraksi masih utuh. Hasil ekstraksi yang masih mengandung RNA dapat dibersihkan dengan menggunakan RNase, yang memiliki fungsi untuk merusak molekul tersebut. Dengan hilangnya RNA maka DNA dapat diekstraksi secara utuh (Muladno, 2010)

Hasil pengujian secara kuantitas dan kualitas dari ekstraksi DNA dalam penelitian ini menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh dari metode modifikasi 2 (2 % mercaptoethanol) memberikan hasil yang terbaik dibandingkan dengan modifikasi 1 (1 % mercaptoethanol). Hal ini dikarenakan kandungan fenol daun kelapa sawit tinggi dan berimplikasi kepada kuantitas serta kualitas DNA yang dihasilkan, sehingga dengan volume konsentrasi mercaptoethanol tinggi mampu untuk mengoptimalkan hasil dari ekstraksi yang dilakukan. Kualitas DNA yang

dihasilkan dalam proses ekstraksi menjadi penting karena berkaitan dengan kualitas hasil yang akurat pada proses analisis molekuler DNA selanjutnya seperti digunakan untuk melihat keragaman tanaman berbasis RAPD dengan analisis molekuler serta pada proses PCR yang digunakan sebagai template proses amplifikasi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa penggunaan modifikasi 2 menghasilkan kualitas dan kuantitas DNA terbaik dibandingkan modifikasi 1 serta modifikasi tersebut cocok digunakan pada sampel daun muda tanaman kelapa sawit *pre nursery* dan *main nursery*. DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi perlu dilakukan pemurnian dengan menggunakan RNAase, agar diperoleh DNA utuh yang dapat digunakan untuk analisis molekuler tingkat selanjutnya.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Titin Setyorini, S.P., M.Sc. atas bantuan dalam penyediaan bibit kelapa sawit. Terimakasih kepada staf Laboratorium Pusat Institiut Pertanian STIPER Yogyakarta dan staf Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada yang telah membantu penyediaan alat-alat untuk kegiatan penelitian.

Daftar Pustaka

- Anonim. (2014). Oilseeds : *World Market And Trade*. United States Department of Agriculture (USDA), Circular series FOP 07-14.
- Arham, N. A., Mohamad, N. A. N., Jai, J., Krishnan, J., & Yusof, N. M. (2013). Application of Response Surface Methodology in Extraction of Bioactive Component from Palm Leaves (*Elaeis guineensis* Jacq.), *International Journal of Science and Engineering (IJSE)*, 5 (2) , 95-100.
- Aulia, R., Siregar, L. A. M., Bayu, E. S., dan Setiowati, R. D. (2017). Evaluasi Keragaman Genetik Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Kebun Percobaan PPKS Berdasarkan Primer SSR (Simple Sequence Repeats), *Jurnal Pertanian Tropik*, 4 (3), 236-239.
- Bagaskara, B. A., Wirawan, I G. P., Sritamin, M., & Yuniti, I G. A. D. (2018). Perbanyak Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L.) dengan Teknik Kultur in vitro Menggunakan Biji Tanaman Terinfeksi Penyakit Citrus *Vein Phloem Degeneration* (CVPD). *Agrotrop*, 8 (2), 179-188
- Ediwirman & Mansya, E. (2009). Optimasi Metode Isolasi DNA Genom pada Tanaman Kapulasan. *Jur. Agroekotek*, 1 (1), 7-11

- GAPKI. (2020). *Implementasi B30 Telah Terlaksana, Pemerintah Langsung Kebut ke Bauran B40 & B50*, <https://gapki.id/news/16011/implementasi-b30-terlaksana-pemerintah-langsung-kebut-ke-bauran-b40-b50>, diakses 17 Maret 2020.
- Komalasari, K. (2009). *Pengaruh Perbandingan Volume Darah dan Lisis Buffer Serta Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Kualitas Produk DNA Pada Sapi Friesian Holstein (FH)*. [Skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Langga, I. F., Restu. M., & Kuswinanti, T. (2012). Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik RAPD-PCR. *J. Sains & Teknologi*, 12(3), 265 – 276
- Mawardi, A. dan Simonapendi, M. L. (2016). Uji Efektivitas Isolasi DNA Genom Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) asal Kabupaten Jayawijaya. *Jurnal Biologi Papua*, 8 (1), 7-12
- Muladno. (2010). *Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor : IPB Press.
- Retnaningati, D. (2020). Optimasi Metode Ekstraksi DNA pada Melon (*Cucumis melo L.*) Berdasarkan Suhu, Lama Inkubasi, dan Kondisi Daun. *Biota. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 5 (2), 109-114
- Sari, D. A., Martiansyah, I., Mukmin, R. P., Hadi, S. N., Syahputra, I., Afandi, D., & Putranto, R. A. (2020). Optimasi Dan Efisiensi Teknik Isolasi RNA Daun dan Akar Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis Jacq.*). *Agrin*. 23 (2), 103
- Sari, V. K. dan Murti, R. H. (2015). An Effective Method for DNA Extraction of Mature Leaf of Sapodilla (*Manlikara zapota (L.) van Royen*), *Agrivita* 37 (1).
- Sasidharan, S., Nilawaty, R., Xavier, R., Latha, L. Y., & Amala, R. (2010). Wound Healing Potential of *Elaeis guineensis Jacq.* Leaves In An Infected Albino Rat Model, *Molecules*, 15 (5), 3186–3199.
- Subdirektorat Statistik Tanaman Perkebunan. (2018). *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2018*. Jakarta : Badan Pusat Statistik.
- Syafaruddin, Randriani, E. & Santoso, T. J. (2011). Efektivitas dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Pada Jambu Mete, *Buletin RISTR*, 2 (2), 151-160
- Utami, A., R. Meryalita, NA Prihatin, L. Ambarsari, PA Kurniatin, & W. Nurcholis. (2012). *Metode Variasi Isolasi DNA Dari Daun Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) : Prosiding Konferensi Nasional Kimia*, pp. 205-214. Surabaya : Unesa.
- Ruchi, W., Putri, D. H., Anhar, A., & Farma., S. A. (2018). Comparison of Three Different DNA Isolation Methods To Degradate The Trichoderma Fungi Cell Wall. *Bioscience*, 2 (1), 50-59
- Yuwono, T. (2006). *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.