

**PENGARUH BERAT SAMPEL DAN LAMA INKUBASI
TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS
ISOLASI DNA TANAMAN KEPEL
(*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. F. & Thomson)**

Amira Firza
Amirafirza4@gmail.com
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

Kepel is a characteristic plant of Yogyakarta that has many benefits for traditional medicine. The existence of kepel is limited, so conservation needs to be done for save genetic material or DNA. DNA can be obtained from the process of DNA isolation. The success of DNA isolation can be seen from the results of high quality and quantity, by optimizing DNA isolation techniques. This study was aimed to determine the sample weight and incubation time to produce the best quality and quantity of DNA. The method used was an experiment compiled in a single randomized complete design (CRD) consisting of 9 treatments with 3 replications, so that 27 units were obtained. The treatments used in this study were sample weight 0.1g, 0.2g, 0.3g and incubation time 15, 30 and 45 minutes. The result of research was sample of weight 0,2 gram and incubation time 30 minutes might be the best samples to produce highest yield of DNA

Keywords: Kepel, DNA isolation

PENDAHULUAN

Kepel atau burahol (*Stelechocarpus burahol*) merupakan salah satu tumbuhan asli Indonesia yang kaya akan manfaat untuk kesehatan (Mogea *et al.* 2001). Menurut Hatmi, dkk., (2014), kepel mengandung senyawa antioksidan, flavonoid, *cyclooxygenase-2 inhibitor*, *anti-hyperuricemic*, zat sitotoksik anti kanker, deodoran oral dan senyawa *phytoestrogen* yang berfungsi sebagai obat asam urat, anti kanker, maag, mencegah batu ginjal,

dan sebagai deodoran alami untuk mengatasi bau keringat, napas dan juga air seni. Selain memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, kepel juga menjadi identitas flora Daerah Istimewa Yogyakarta yang keberadaannya perlu dilestarikan. Akan tetapi, seiring pertumbuhan penduduk dan meningkatnya pembangunan perumahan serta industri, populasi kepel mengalami penurunan dan dikhawatirkan menjadi langka.

Menurut Moge (2001), keberadaan kepel masuk dalam kategori CD (*Conservation Dependent*) yaitu tanaman kepel sulit ditemui karena telah langka (*rare*) dan apabila tidak dilakukan tindakan konservasi maka statusnya menjadi rawan (*vulnerable*). Berdasarkan hasil survey pada tahun 2011, menunjukkan tanaman kepel sangat terbatas dan umurnya sudah lebih dari 20 tahun, sehingga kepel masuk dalam daftar tanaman langka. Haryjanto (2012) menyatakan keterbatasan budidaya pada tanaman kepel dikarenakan rendahnya minat masyarakat untuk membudidayakan tanaman kepel dan sulitnya budidaya baik secara pembenihan, stek, maupun cangkok. Apabila kondisi tersebut terus berlangsung maka dikhawatirkan tanaman kepel dapat mengalami kepunahan, sehingga perlu dilakukan konservasi.

Konservasi terhadap tanaman kepel perlu dilakukan untuk menghindari dari kepunahan dan melestarikan sumber daya genetik atau plasma nutfah. Sumber daya genetik atau plasma nutfah merupakan sumber perbendaharaan gen atau karakter yang memiliki

fungsi melestarikan sumber daya genetik, memenuhi kebutuhan gen di masa depan yang keberadaannya rawan punah, agar dapat menyediakan gen-gen untuk mengantisipasi kepunahan serta berperan mengembangkan varietas/kultivar baru yang berguna dalam pengembangan industri pertanian (Trustinah, 2017). Oleh karena itu, upaya untuk mempertahankan sumber daya genetik pada tanaman kepel dapat dilakukan dengan konservasi sumber daya genetik, salah satunya dengan cara menyimpan materi genetik atau DNA.

DNA merupakan molekul pembawa informasi genetik yang terdapat pada semua makhluk hidup. DNA dari makhluk hidup dapat diperoleh dengan suatu proses ekstraksi, sehingga memudahkan untuk mengidentifikasi DNA yang disebut dengan proses Isolasi DNA. Isolasi DNA merupakan langkah awal yang perlu dilakukan untuk studi genetika dan molekuler suatu spesies serta dapat berfungsi dalam mengenali informasi genetik yang dimiliki oleh suatu makhluk hidup. Isolasi DNA bertujuan memisahkan

DNA dari molekul atau bahan lain yang terdapat pada inti sel seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yaitu penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley, 2008)

Keberhasilan dalam isolasi DNA dapat dilihat dari hasil kualitas dan kuantitas DNA yang tinggi. Hal tersebut dapat diusahakan dengan cara mengoptimalkan teknik isolasi DNA yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya berat sampel yang diekstrak, yang digunakan dalam proses isolasi DNA. Handayani (2008) menyatakan bahwa macam dan berat sampel yang digunakan dalam isolasi DNA dapat menghasilkan konsentrasi DNA yang nyata berbeda. Selain itu, teknik isolasi DNA juga dipengaruhi oleh lama inkubasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Langga, dkk., (2012), pada perlakuan inkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit memaksimalkan keluarnya DNA dari sel dan mendegradasi protein dari dinding sel secara optimal dibandingkan dengan perlakuan

inkubasi lain sehingga menghasilkan tingkat kemurnian yang cukup tinggi yaitu 1,78. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan berat sampel dan lama inkubasi yang optimal untuk menghasilkan DNA tanaman kepel dengan kuantitas dan kualitas terbaik.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, endosperm tanaman kepel, Isolasi DNA menggunakan *Wizard Genomic DNA Purification* Kit A 1120, alkohol 70%, isopropanol 95%, akuades, kertas parafilm, gel agarose 1%, larutan TAE 1 X, *ethidium bromide* 1 µg/ml, DNA *loading dye* 2 µl. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar, pestle, *tube eppendorf* 1,5 ml, mikropipet dan tip, *microcentrifuge*, *freezer*, *sterofoam*, spatula, *waterbath*, pembuangan tip, tempat es, sarung tangan, alat elektroforesis, *UV transiluminator*, timbangan analitik, mangkuk timbang, *microwave*, erlenmeyer, gelas ukur dan spektrofotometer merk Tecan Spark 20M.

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode eksperimen faktor tunggal yang disusun dalam

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan. Tiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan, sehingga terdapat 27 unit percobaan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berat sampel 0,1g, 0,2g, 0,3g yang dikombinasikan dengan lama inkubasi 15, 30 dan 45 menit.

Pelaksanaan Penelitian

Preparasi sampel.

Biji kepel diambil dan dibersihkan dari daging buah hingga kesat. Biji kepel kemudian dibelah dan diambil bagian endosperm yang akan dijadikan sampel dalam penelitian. Sampel kemudian disimpan dalam *freezer* pada suhu -21°C selama 24 jam.

Isolasi DNA

Endosperm dari biji kepel digerus menggunakan *micropestle* yang telah didinginkan dalam *freezer* dan ditimbang dengan variasi berat yaitu 0,1 g; 0,2 g dan 0,3 g. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* 2 ml, dan ditambahkan 600 μl larutan *nuclei lysis Solution* dan di homogenkan selama 3 menit sampai homogen. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 65°C di dalam *waterbath* dengan

lama inkubasi sesuai dengan perlakuan yaitu 15, 30 dan 45 menit, serta dilakukan pengocokan tabung secara manual setiap 5 menit sekali agar bahan dalam tabung *eppendorf* homogen..

Langkah selanjutnya ditambahkan 3 μl larutan *Rnase Solution* dan dihomogenkan kembali dengan cara membolak-balik tabung *eppendorf*. Campuran yang sudah homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Sampel selanjutnya didinginkan pada suhu kamar selama 5 menit., kemudian ditambahkan 200 μl larutan *protein precipitation* dan disentrifugasi dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit menggunakan *microcentrifuge*. Hasil dari sentrifugasi yaitu berupa supernatan. Supernatan yang terbentuk lalu dipindahkan ke dalam tabung mikro 1,5 mL sebanyak 600 μl diikuti dengan penambahan 600 μl isopropanol dan didiamkan dalam suhu kamar selama 10 menit.

Tabung yang berisi larutan DNA dan isopropanol disentrifugasi kembali dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar. Supernatan yang terbentuk

kemudian dibuang sedangkan palet yang terbentuk dibilas menggunakan larutan etanol 70% sebanyak 600 µl untuk menghilangkan sisa garam. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit pada suhu kamar. Pelet yang telah bersih dikeringanginkan semalam. Pelet yang telah kering dilarutkan dalam 100 µl larutan DNA *Rehydration*. Larutan DNA stok tersebut diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. DNA stok yang sudah jadi disimpan pada suhu 4°C hingga siap digunakan.

Analisis Kuantitatif DNA menggunakan Spektrofotometer

Larutan DNA yang sudah diisolasi diambil sebanyak 2 µl dan diencerkan sebanyak 100 kali dengan akuades steril kemudian dimasukkan dalam kuvet dan dibaca hasil absorbansi optikal densitinya (OD) pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dihitung berdasarkan hasil OD tersebut. Konsentrasi DNA = $\text{OD}_{260} \times 50 \times$ faktor pengenceran

$$\text{Kemurnian DNA} = \frac{\lambda_{260 \text{ nm}}}{\lambda_{280 \text{ nm}}}$$

Analisis Kualitatif DNA menggunakan Metode Elektroforesis

Agarose sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam 50 mL TAE 1X dan dipanaskan dalam microwave selama 5 menit sampai mendidih. Selanjutnya didinginkan ± 1 menit untuk menghilangkan uap panas dan ditambah 10 µl/ml ethidium bromida dan dituangkan dalam cetakan elektroforesis. Setelah padat gel direndam dalam tabung elektroforesis yang berisi TAE 1X. Sampel DNA sebanyak 5 ul dimasukkan ke dalam masing-masing well (sumuran) dan pada salah satu well dimasukkan marker DNA λ *Styl*. Elektroforesis dijalankan dengan menggunakan voltase 100 volt selama ±20 menit. Arus akan mengalir dari kutub negatif ke kutub positif dan DNA akan bergerak menuju kutub positif dan akan terpisah sesuai dengan ukuran molekulnya sehingga dengan menggunakan lampu UV dapat dianalisis pita DNA yang tampak dengan cara membandingkan dengan marker DNA λ *Styl*

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Konsentrasi DNA

Konsentrasi DNA menunjukkan jumlah atau kandungan

DNA dalam suatu larutan yang diperoleh dari proses isolasi DNA. Konsentrasi DNA yang dihasilkan pada proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh berat sampel yang

digunakan dan lama inkubasi yang tepat untuk memecah membran dan jaringan sel secara optimal (Langga, dkk., 2012).

Tabel 1. Rerata Total Konsentrasi DNA pada beberapa Lama Inkubasi dan Berat Sampel terhadap Hasil Isolasi DNA Tanaman Kepel (ng/μl)

No	Perlakuan	Konsentrasi (ng/μl)
1	Berat sampel 0,1g + inkubasi 15`	179,19a
2	Berat sampel 0,1g + inkubasi 30`	101,53a
3	Berat sampel 0,1g + inkubasi 45`	74,88a
4	Berat sampel 0,2g + inkubasi 15`	141a
5	Berat sampel 0,2g + inkubasi 30`	151,07a
6	Berat sampel 0,2g + inkubasi 45`	149,13a
7	Berat sampel 0,3g + inkubasi 15`	219,61a
8	Berat sampel 0,3g + inkubasi 30`	237,59a
9	Berat sampel 0,3g + inkubasi 45`	125,92a

Keterangan: Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT pada taraf kesalahan 5%.

Berdasarkan data pada Tabel 1, menunjukkan konsentrasi DNA hasil uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer memiliki nilai konsentrasi DNA antara 74,88-237,59 ng/μl Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT pada Tabel 2, menunjukkan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan terhadap konsentrasi DNA. Nilai rerata konsentrasi DNA pada perlakuan berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 30 menit menunjukkan nilai rerata yang diduga lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu 237,59 ng/μl. Hal tersebut diduga pada lama inkubasi 30

menit, DNA yang diiringi dengan penambahan jumlah sampel yang digunakan dalam proses isolasi dapat mengoptimalkan keluarnya DNA dari sel dan mendegradasi protein dari dinding sel secara optimal sehingga dapat meningkatkan nilai konsentrasi DNA yang diperoleh.

Nilai rerata konsentrasi DNA pada perlakuan berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 45 menit memiliki nilai rerata konsentrasi yang diduga lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu 74,88 ng/μl. Hasil tersebut diduga berat sampel yang lebih sedikit dan diiringi waktu inkubasi yang terlalu lama

dapat menurunkan nilai konsentrasi DNA. Mubarak (2016) menyatakan apabila waktu inkubasi pada proses ekstraksi DNA terlalu lama maka dapat merusak DNA dan DNA menjadi terpotong-potong serta memiliki ukuran yang sangat kecil. DNA dengan ukuran yang sangat kecil akan lebih sedikit menyerap cahaya UV, sehingga konsentrasi DNA yang dihasilkan juga sedikit (Murtyaningsih, 2017).

B. Kemurnian DNA

Kemurnian suatu DNA ditunjukkan dari banyaknya jumlah DNA yang tidak terkontaminasi dalam larutan DNA sampel (Ludyasari, 2014). Perhitungan tingkat kemurnian sampel DNA dapat dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Kemurnian DNA dikatakan baik apabila rasio pada OD 260/280 memiliki nilai 1,8-2 dan OD 260/230 memiliki nilai 1,8- 2,2. (Fatchiyah, dkk., 2011).

Tabel 2. Rerata Tingkat Kemurnian DNA pada beberapa Lama Inkubasi dan Berat Sampel terhadap Hasil Isolasi DNA Tanaman Kepel.

No	Perlakuan	Kemurnian (ng/ μ l)
1	Berat sampel 0,1g + inkubasi 15`	1,44ab
2	Berat sampel 0,1g + inkubasi 30`	1,58a
3	Berat sampel 0,1g + inkubasi 45`	1,51a
4	Berat sampel 0,2g + inkubasi 15`	1,49ab
5	Berat sampel 0,2g + inkubasi 30`	1,48ab
6	Berat sampel 0,2g + inkubasi 45`	1,34ab
7	Berat sampel 0,3g + inkubasi 15`	1,25b
8	Berat sampel 0,3g + inkubasi 30`	1,43ab
9	Berat sampel 0,3g + inkubasi 45`	1,47ab

Keterangan: Angka rerata yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji lanjut DMRT pada taraf kesalahan 5%.

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT pada Tabel 3, menunjukkan tidak terdapat beda nyata antara perlakuan terhadap kemurnian DNA. Rerata kemurnian DNA hasil uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer memiliki nilai rerata yang rendah yaitu 1,25 sampai 1,58. Nilai rerata tersebut menunjukkan

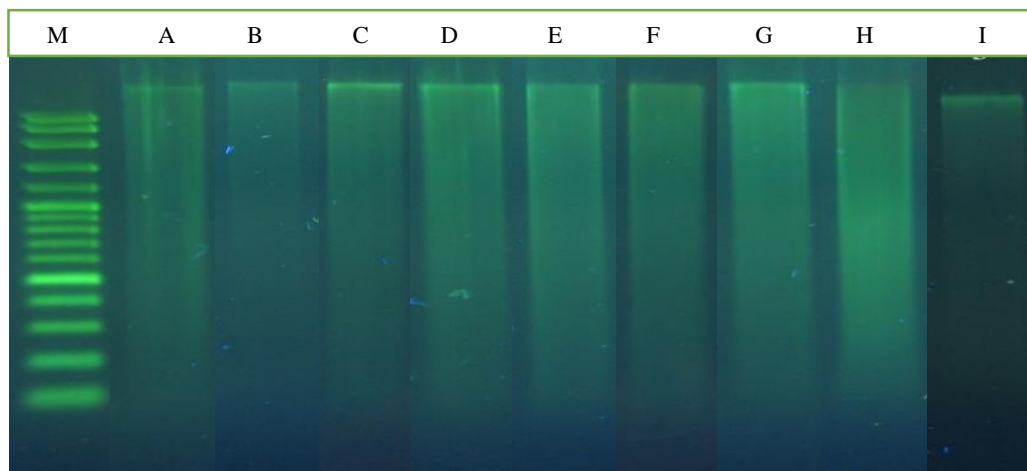
angka dibawah 1,8 yang mengindikasi bahwa DNA tidak murni. Rendahnya kemurnian DNA menunjukkan DNA hasil ekstraksi masih terdapat kontaminasi berupa senyawa protein, dan senyawa sisa metabolit sekunder (Sari, 2014). Kemurnian DNA yang masih rendah dimungkinkan karena *buffer* yang

digunakan kurang efektif dalam mendegradasi protein dan sisa senyawa metabolit sekunder pada tanaman kepel. Atmaja (2014) menyatakan salah satu kekurangan penggunaan DNA KIT adalah *buffer* yang tersedia hanya didesain untuk tanaman yang memiliki kadar metabolit sekunder dan polisakarida rendah. Selain itu, kontaminasi juga disebabkan oleh tidak optimalnya proses penghomogenan sampel dengan larutan *buffer*, sehingga menyebabkan adanya kontaminan yang masih menempel pada DNA. Mubarok (2016) menyatakan pada tahapan *vortex* setelah dilakukannya

penambahan larutan PPS (*Protein Precipitation Solution*) harus benar-benar homogen untuk menghilangkan protein yang menempel pada DNA.

C. Intensitas dan Berat Molekul DNA

Intensitas dan berat molekul DNA pada gel elektroforesis berfungsi untuk menunjukkan kualitas DNA. Kualitas DNA dapat dikatakan baik apabila pita DNA yang dihasilkan tebal, terang, jelas dan tidak *smear* (Utami, dkk., 2012 dalam Sholihah, 2014). Hasil elektroforesis DNA pada tanaman kepel disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Intensitas dan Berat Molekul DNA Tanaman Kepel pada Gel Elektroforesis.

Keterangan:

- A : Berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 15 menit
- B : Berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 30 menit
- C : Berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 45 menit
- D : Berat sampel 0,2 gram dengan lama inkubasi 15 menit
- E : Berat sampel 0,2 gram dengan lama inkubasi 30 menit
- F : Berat sampel 0,2 gram dengan lama inkubasi 45 menit

G : Berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 15 menit
H : Berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 30 menit
I : Berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 45 menit
M : DNA marker

Berdasarkan gambar 5, menunjukkan pita DNA yang dihasilkan dalam gel elektroforesis pada perlakuan berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 15, 30 dan 45 menit masih terdapat *smear* dengan intensitas yang lebih tipis. Pada perlakuan 0,1 gram dengan lama inkubasi 45 menit (C) diketahui memiliki pita DNA yang lebih baik karena pita DNA yang terlihat diduga lebih tebal meskipun masih terdapat *smear*. Adanya *smear* pada visualisasi DNA dengan elektroforesis menunjukkan DNA masih terkontaminasi oleh RNA. Munculnya kontaminan RNA dapat disebabkan oleh kurang maksimalnya kerja RNase pada tahap purifikasi (Murtyaningsih, 2017).

Berdasarkan gambar 5, menunjukkan pita DNA yang dihasilkan dalam gel elektroforesis pada perlakuan 0,2 gram dengan lama inkubasi 15,30 dan 45 menit cukup tebal dan masih terdapat *smear* dengan intensitas yang lebih tebal dibandingkan pada perlakuan 0,1 gram. Pada perlakuan 0,2 gram

dengan lama inkubasi 15 menit (D) diketahui memiliki pita DNA yang lebih baik karena pita DNA yang terlihat diduga lebih terlihat tebal meskipun masih terdapat *smear*. Keberadaan *smear* pada visualisasi DNA dengan elektroforesis juga dapat disebabkan oleh terputusnya ikatan antar molekul DNA pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Terputusnya ikatan antar molekul dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan pada saat proses pemipetan, disentrifus, atau temperatur tinggi dan waktu inkubasi yang terlalu lama (Irmawati, 2003).

Pada perlakuan berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 15, 30 dan 45 menit, menunjukkan pita DNA yang dihasilkan dalam gel elektroforesis cukup tebal dan masih terdapat *smear* (Gambar 5). Pada perlakuan 0,3 gram dengan lama inkubasi 45 menit (I) diketahui memiliki pita DNA yang lebih baik karena pita DNA yang terlihat cukup tebal meskipun masih terdapat *smear*,

namun *smear* pada perlakuan ini lebih tipis. Hal ini menunjukkan, DNA total yang diekstrak dalam keadaan utuh dan memiliki konsentrasi dan kemurnian yang cukup tinggi. Menurut Irmawati (2003), menyatakan bahwa pita DNA yang tebal, terang, jelas dan mengumpul (tidak menyebar) merupakan pita DNA yang memiliki konsentrasi tinggi dan DNA total dalam keadaan utuh.

KESIMPULAN

Isolasi DNA pada tanaman kepel dengan perlakuan berat sampel dan lama inkubasi belum menghasilkan DNA yang murni.

Perlakuan berat sampel 0,1 gram dengan lama inkubasi 30 menit diduga memberikan hasil terbaik dengan konsentrasi DNA yang diperoleh yaitu 101,53 ng/ μ l dan nilai rasio kemurnian DNA 1,58 pada nilai absorbansi 260/280.

SARAN

Perlu dilakukan purifikasi DNA lebih lanjut untuk mendapatkan kemurnian DNA dan kualitas DNA yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

Corkill, G., dan Rapley, R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acids: Basic Tools and Techniques*. In: *Molecular Biomethods Handbook Second Edition*. Ed: Walker, J.M., Rapley, R. Humana Press, NJ, USA.

Fatchiyah, A.E. L, Widyarti, S., dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta.

Handayani E. 2008. Optimasi Macam dan Berat Sampel untuk Isolasi DNA Angrek (*Phalaenopsis Amabilis*, L). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian AGRUMY*.

Haryjanto, L. 2012. Konservasi Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f& Thomson): Jenis yang Telah Langka. [http://www.fordamof.org/files/Mitra HT 7.1.2 012-2.Haryjanto Haryjanto.pdf](http://www.fordamof.org/files/Mitra_HT_7.1.2_012-2.Haryjanto_Haryjanto.pdf), diakses pada tanggal 5 November 2017.

Hatmi, R. U., Setyorini, W., dan Sudarmaji. 2014. Potensi Kepel (*Stelechocarpus Burahol* [Blume] Hook.F & Th.) Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian: Yogyakarta.

Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi

- Pertama Pada Stok Hatchery. Thesis. Bogor: IPB.
- Langga, I. F., Muh, R., dan Tutik, K. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) serta Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik Rpd-Pcr. J. Sains & Teknologi, Desember 2012, Vol.12 No.3 : 265 – 276.
<http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/0b939e0181da0eccc16cd29267c1545a.pdf>.
- Ludyasari. 2014. Pengaruh Suhu Annealing Pada Program Pcr Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah. Skripsi. UIN Malang.
- Mogea, J.P. 2001. Tumbuhan Langka Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI: Bogor.
- Murtyaningsih. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerbatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD. Agritrop, Juni 2017. Volume 15 (1).
<http://jurnal.unmuhjember.ac.id>
- Sholihah, S. M. 2014. Hubungan Kekerbatan Beberapa Kultivar Pisang (*Musa sp*) untuk Sifat Ketahanan Terhadap Penyakit Berdasarkan RGA. Skripsi. UIN Malang.
- Trustinah. 2017. Plasma Nutfah Kacang Tanah: Keragaman Dan Potensinya Untuk Perbaikan Sifat-Sifat Kacang Tanah. Buletin Palawija No.18 58-65.
http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2017/02/bp-no-18_2009_3.pdf)

