



Biogenerasi Vol 10 No 2, 2025

Biogenerasi

Jurnal Pendidikan Biologi

<https://e-journal.my.id/biogenerasi>



UJI KEBERHASILAN AMPLIFIKASI GEN *N-METHYLTRANSFERASE* PADA KOPI ROBUSTA DI PERKEBUNAN KOPI RAKYAT LEMBAH GUNUNG BETUNG, BOGOREJO, LAMPUNG

Shifa Sandra¹, Elly Lestari Rustiati¹, Eko Agus Srihanto², Sri Wahyuningsih¹, Priyambodo Priyambodo¹, Dian Neli Pratiwi³, Muhammad Febriansyah¹, Septi Wahyu Lestari¹, Winarno Winarno¹, Natasya Thesalonika¹, Minanti Mayda Ashari¹, Yuliana Andriyani¹, Aril Afandi¹, Anisa Lidya¹, Nindy Permatasari⁴, Suhada Suhada⁴

¹Jurusan Biologi, Universitas Lampung, Indonesia

²Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan, Politeknik Negeri Lampung, Indonesia

Balai Veteriner Lampung, Indonesia

PT Semeru Teknik, Indonesia

*Corresponding author E-Mail: priyambodo@fmipa.unila.ac.id

Abstract

Indonesia has two types of coffee that are commonly cultivated, namely robusta coffee and arabica coffee. In Lampung, robusta coffee is the most widely grown type of coffee. The majority of Lampung people cultivate in traditional plantations. Biodiversity in robusta coffee genetically using molecular analysis in smallholder coffee plantations has not been widely practiced. The purpose of this study was to test the success of N-Methyltransferase gene amplification in robusta coffee in Lembah Gunung Betung Coffee Plantation, Betung, Bogorejo, Lampung. This research stage includes DNA extraction to obtain pure DNA, determine the size of DNA amplicons through DNA amplification using a commercial kit, and electrophoresis 1% agarose gel. The results of DNA amplification on five robusta coffee leaf samples obtained DNA bands with sizes ranging from 630-650 bp, there were no smears, but there were variations in the thickness of the DNA bands.

Keywords: *N-Methyltransferase, robusta coffee, Polymerase Chain Reaction*

Abstrak

Indonesia memiliki dua jenis kopi yang umum dibudidayakan, yaitu kopi robusta dan kopi arabika. Di Lampung, kopi robusta menjadi jenis kopi yang banyak ditanam. Masyarakat Lampung mayoritas melakukan budidaya di perkebunan tradisional. Keanekaragaman hayati pada kopi robusta secara genetik menggunakan analisis molekuler di perkebunan kopi rakyat masih belum banyak dilakukan. Tujuan dari penelitian ini untuk uji keberhasilan amplifikasi gen N-Methyltransferase pada kopi robusta di Perkebunan Kopi Rakyat Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung. Tahap penelitian ini meliputi ekstraksi DNA untuk mendapatkan DNA murni, mengetahui ukuran amplicon DNA melalui amplifikasi DNA menggunakan *commercial kit*, dan elektroforesis 1% gel agarosa. Hasil amplifikasi DNA pada lima sampel daun kopi robusta memperoleh pita DNA dengan ukuran berkisar antara 630-650 bp, tidak terdapat *smear*, namun terdapat variasi ketebalan pita DNA.

Kata Kunci: *N-methyltransferase, kopi robusta, Polymerase Chain Reaction*

© 2025 UNIVERSITAS COKROAMINOTO PALOPO

Correspondence Author:
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan, Universitas Lampung

p-ISSN 2573-5163
e-ISSN 2579-7085

PENDAHULUAN

Tanaman kopi menjadi tanaman yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia. Kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang cocok di tanam di daerah tropis. Tanaman kopi telah menjadi komoditas unggulan dan memiliki nilai ekonomi tinggi di Indonesia. Ekspor kopi Indonesia mencapai US\$1,14 miliar dengan volume 433.780 ton dan mengalami kenaikan 35,71% dibandingkan tahun sebelumnya sebesar US\$842,52 juta dengan volume 380.173 ton (Badan Pusat Statistik, 2023).

Indonesia menjadi negara yang menduduki urutan ke-4 sebagai negara pengekspor kopi terbesar di dunia setelah Brazil, Kolombia, dan Vietnam (Harum, 2022). Indonesia sebagai negara yang membudidayakan dua jenis kopi yaitu kopi robusta dan arabika (Elvin, 2018). Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan kopi yang paling banyak diproduksi di Indonesia. Indonesia sebagai negara yang menempati urutan kedua setelah Vietnam sebagai penghasil kopi jenis robusta dan menjadi kopi yang banyak dibudidayakan di berbagai wilayah Indonesia, termasuk Lampung. Mayoritas masyarakat Lampung melakukan budidaya kopi robusta di perkebunan tradisional milik rakyat (Liana dkk., 2022). Total hasil produktivitas kopi robusta di Lampung mencapai 118.139.00 juta ton dengan Pesawaran yang berada di urutan ke-3 sebagai daerah yang menghasilkan kopi robusta sebanyak 1.282.00 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2023).

Pesawaran memiliki lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan kopi robusta. Berdasarkan kondisi permukaan bumi, Pesawaran merupakan daerah dataran rendah dan tinggi yang sebagiannya menjadi daerah perbukitan hingga pegunungan dengan permukaan laut yang memiliki ketinggian bervariasi antara 0,0 meter – 1,682 meter (Pesawarankab, 2024). Kopi robusta dapat tumbuh dengan baik di ketinggian 0-900 meter dari permukaan laut (Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Bandung, 2018).

Kajian mengenai keragaman genetik tanaman kopi robusta di perkebunan kopi rakyat, khususnya di Lampung masih terbatas. Pengembangan data plasma nutfah pada keanekaragaman hayati tingkat spesies kopi robusta khususnya melalui konfirmasi marka molekuler diperlukan. Analisis data secara

genetik untuk spesies kopi dapat mengetahui karakterisasi dari spesies kopi tersebut dan sifat-sifat molekuler yang melekat (Rustiati dkk., 2024). Analisis penanda molekuler juga dapat dilakukan untuk melihat adanya keragaman genetik secara dini pada setiap fase pertumbuhan tanaman untuk meminimalisir pengaruh lingkungan terhadap genotip yang dianalisis (Magandhi dan Muhammad, 2020).

Metode molekuler yang digunakan meliputi ekstraksi DNA dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kedua metode ini merupakan metode yang menentukan peneliti dalam melakukan identifikasi molekuler (Aradea, 2022). Ekstraksi DNA menjadi tahap awal dari analisis molekuler untuk memisahkan DNA dari selnya sehingga mendapatkan DNA yang murni dengan konsentrasi yang tinggi. Pada prinsipnya, tahapan ekstraksi DNA terdiri atas tiga tahap utama, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari komponen lainnya, serta pemurnian DNA (Hutami dkk., 2018).

Polymerase Chain Reaction (PCR) menjadi tahap penting pada proses analisis molekuler untuk memperbanyak jumlah DNA yang didapatkan setelah proses ekstraksi telah dilakukan. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini untuk menguji keberhasilan amplifikasi gen *N-Methyltransferase* pada kopi robusta di Perkebunan Kopi Rakyat Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung.

METODE

Penelitian dilakukan menggunakan pendekatan metode *proposive sampling*. Tumbuhan kopi robusta dari lima organ daun diambil di Perkebunan Kopi Rakyat Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung. Sampel daun kopi dibawa dari perkebunan kopi ke Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung untuk dilakukan analisis secara molekuler. Analisis awal yang dilakukan, yaitu ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode *silica based* atau lebih dikenal dengan metode kit ekstraksi. Tahap ekstraksi DNA daun kopi mengacu pada protokol *Genomic DNA Mini Kit* (Geneaid GP 100) meliputi tahap lisis, pengikatan DNA (*binding*), pencucian DNA, dan elusi. Visualisasi kualitas DNA dapat dilihat melalui elektroforesis 1% gel agarosa. Hasil DNA genom yang telah didapatkan dilakukan amplifikasi DNA dilakukan dengan reagen *MyTaq HS Red Mix* (BIO-25047) dengan alat *thermal cycler*. Amplifikasi DNA

dilakukan dengan 35 siklus yang melalui tahap pre-denaturasi 95°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* 62°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 2 menit, dan *post-extension* 72°C selama 7 menit sebagai tahap terakhir dari proses amplifikasi DNA. Hasil perbanyakan amplicon DNA divisualisasikan dengan elektroforesis 1% gel agarosa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel

Lima daun kopi robusta masing-masing diambil 5-7 helai pada tiap individu pohon kopi robusta menggunakan teknik *proposive sampling* di Perkebunan Kopi Rakyat Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung. Teknik pengambilan pada masing-masing sampel daun kopi robusta dapat mewakili populasi tempat penelitian secara keseluruhan (Sofiana dkk., 2016).

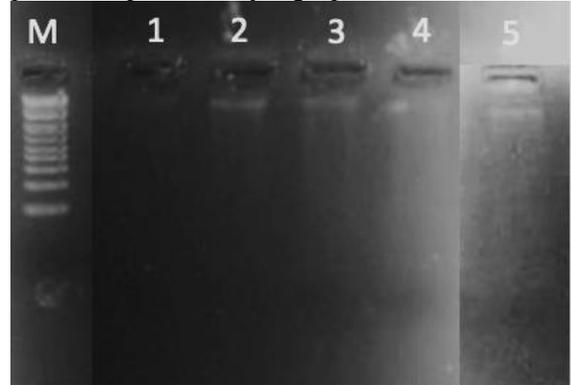
Sampel diambil secara aseptik, yaitu masing-masing daun disemprot dengan alkohol 70% dan dibersihkan dengan tisu. Ujung tangkai daun kopi robusta dilapisi oleh kapas yang telah dibasahi air untuk mencegah kebusukan daun. Masing-masing sampel disimpan ke dalam amplop berisi silika gel agar menghindari kerusakan sampel akibat kelembapan (Guntor, 2020). Sampel dilapisi kembali dengan plastik *ziplock*.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menjadi metode dasar yang penting dalam proses analisis molekuler. Metode ini merupakan proses pemisahan materi genetik dari sel berupa membran seluler, RNA, dan protein lainnya (Sari dan Didik, 2022). Total lima sampel daun kopi robusta yang telah dilakukan uji kualitas DNA hasil ekstraksi melalui alat elektroforesis dengan konsentrasi 1% gel agarosa. Konsentrasi dari gel agarosa mempengaruhi laju migrasi DNA pada proses elektroforesis. Fatciyah (2011) menyatakan bahwa besaran pori gel yang akan memisah-misahkan DNA ditentukan dari konsentrasi agarosa yang digunakan. Penggunaan elektroforesis gel agarosa pada DNA yang sudah di ekstraksi untuk melihat dan memperjelas ada atau tidaknya pita DNA dari sampel yang di uji.

Hasil positif gel agarosa ditandai dengan munculnya pita yang berpendar jika gel dilihat di bawah sinar ultraviolet. Hasil negatif dari elektroforesis gel agarosa, yaitu tidak adanya pita yang berpendar ketika gel agarosa dilihat di

bawah sinar UV (Fahlevi dkk., 2017). Hasil elektroforesis DNA (Gambar 1) total lima sampel kopi robusta menunjukkan adanya pendaran pita DNA. Pita DNA yang terang ditunjukkan pada sampel nomor 2, 3, 4, dan 5, sedangkan sampel nomor 1 menunjukkan pendaran pita DNA yang tipis.



Gambar 1. Visualisasi Elektroforesis Hasil Ekstraksi 5 Sampel Daun Kopi Robusta (Ket: M: Marker, 1, 2, 3, 4, 5: Sampel Daun Kopi Robusta Perkebunan Kopi Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung)

Pendaran pita DNA yang baik ditandai dengan pita DNA yang tebal dan terang, sedangkan pendaran pita DNA yang kurang baik terlihat tipis atau *smear*. Ekasari dkk., (2012) menyatakan bahwa DNA yang memiliki kualitas baik ditentukan oleh pita yang padat dan tidak ada *smear*. *Smear* pada pita DNA yang divisualisasikan dari sinar UV transilluminator pada elektroforesis merupakan DNA yang dipotong menjadi beberapa bagian dan berukuran kecil.

Hasil dari pengujian DNA menunjukkan kualitas DNA yang cukup baik untuk proses PCR. Kualitas DNA dapat mempengaruhi DNA target yang diinginkan. Hasil kualitas DNA yang kurang baik dapat disebabkan oleh proses ekstraksi yang kurang optimal. Kusuma (2022) menyatakan bahwa keberhasilan dari melakukan uji kualitas DNA, yaitu pada saat proses ekstraksi tidak terkontaminasi dari karbohidrat, protein, atau fenol.

Visualisasi Amplifikasi DNA

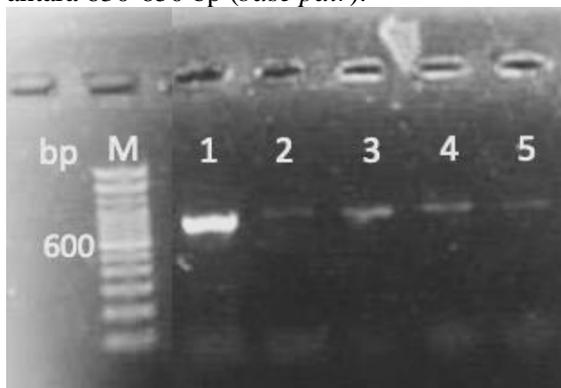
Sampel selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR dan hasil visualisasi dapat dilihat dengan elektroforesis 1% gel agarosa. PCR merupakan teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro* yang terdiri dari beberapa tahap berulang atau siklus dan memiliki jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. Menurut (Handoyo dan Rudiretna 2001; Siallagan dkk., 2022) Proses

PCR terdiri atas beberapa tahap, yaitu pra-denaturasi DNA templat, denaturasi DNA templat, penempelan primer pada templat (*annealing*), pemanjangan primer (*extension*), dan pematapan (*post-extension*). Tahap denaturasi dan pemanjangan DNA merupakan tahap yang berulang (siklus). Setiap siklus terjadi duplikasi pada jumlah DNA.

Amplifikasi DNA dilakukan dengan primer gen *N-Methyltransferase* dengan masing-masing primer *forward* 5'-ACCTTTCCTTGAACAATGCATACG-3' dan *reverse*

5'AATCCCAATTCAATCACCAAACC-3' (Perrois dkk., 2015). Primer berfungsi sebagai pembatas dari fragmen DNA target yang akan diamplifikasi dan juga menyediakan gugus hidroksi (OH) pada ujung 3' untuk proses ekstensi atau pemanjangan DNA (Tilawah dkk., 2019).

Total lima sampel daun kopi robusta menunjukkan adanya pendaran pita DNA (Gambar 2). Ketebalan pita DNA daun kopi robusta yang paling bagus ditunjukkan pada sampel nomor 1. Tingkat ketebalan pada pita DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor. Aulia dkk., (2021) menyatakan bahwa tebalnya pita DNA ditentukan dari kemurnian DNA dari proses ekstraksi. Pita DNA yang tebal dan tidak menyebar menunjukkan konsentrasi DNA yang tinggi, sedangkan pita DNA yang menyebar disebabkan karena ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi DNA, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (Irmawati, 2003). Hasil amplifikasi DNA pada masing-masing sampel daun kopi robusta berkisar antara 630-650 bp (*base pair*).



Gambar 2. Visualisasi Elektroforesis Hasil Amplifikasi 5 Sampel Daun Kopi Robusta (Ket: bp: *base pair*, M: *Marker*, 1, 2, 3, 4, 5: Sampel Daun Kopi Robusta Perkebunan Kopi Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung)

Analisis keanekaragaman hayati secara genetik dengan gen *N-Methyltransferase* pada daun kopi robusta digunakan secara luas. Rustiati dkk., (2024) melakukan penelitian optimalisasi teknik ekstraksi dan amplifikasi DNA menggunakan gen *N-Methyltransferase* untuk konfirmasi spesies kopi robusta. Selain itu, Satyanarayana (2005) melakukan kajian mengenai Identifikasi polimorfisme gen NMT dapat membantu mengembangkan tanaman kopi transgenik dengan profil kafein yang diinginkan, meningkatkan praktik pertanian, dan preferensi konsumen.

Penelitian ini bertujuan untuk menjadi data dasar informasi mengenai keanekaragaman genetik pada kopi robusta. Variasi secara genetik menjadi informasi dasar dalam penyusunan strategi konservasi pemuliaan, pengelolaan, dan pemanfaatan sumber daya genetik secara berkelanjutan (Aulia dkk., 2021).

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil amplifikasi DNA dengan gen *N-Methyltransferase* pada lima sampel kopi robusta dari Perkebunan Kopi Rakyat Lembah Gunung Betung, Bogorejo, Lampung menunjukkan fragmen DNA yang baik. Ketebalan pita DNA paling bagus pada sampel nomor 1 ditandai dengan pita DNA yang terang dan tebal serta tidak menyebar. Hasil amplifikasi DNA pada masing-masing sampel daun kopi robusta berkisar antara 650-680 bp (*base pair*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Universitas Lampung yang memberikan pendanaan melalui program DIPA BLU Universitas Lampung dan Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung yang memberikan izin penelitian analisis molekuler.

DAFTAR RUJUKAN

- Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. 2021. Optimasi Suhu Annealing untuk Amplifikasi DNA Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 18(1): 44-54.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2023. *Statistik Kopi Indonesia*. Indonesia.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2023. *Produksi Tanaman Kopi Robusta*. Provinsi Lampung. Bandar Lampung.

- Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Badung. 2018. *Mengenal Tanaman Kopi Robusta*. Diakses pada 18 September 2024.
- Fahlevi, M.R., Darma, B., dan Suzanna, F., S. 2017. Karakterisasi Molekuler *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera: Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Metode *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*. 5(4): 941-953.
- Ekasari, T.W.D., Retnoningsih, A., dan Widiyanti, T. 2012. Analisis Keanekaragaman Kultivar Pisang Menggunakan Penanda PCR-RFLP pada Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA Ribosom. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 35(1): 21-30.
- Elvin, D.M. 2018. Analisis Produksi Kopi di Indonesia. *Journal of Agribusiness Sciences*. 1(2): 112-120.
- Fatchiyah, A., Widyarti, L. E., & Rahayu, S. 2011. *Biologi molekular Prinsip Dasar Analisis*. Malang: Erlangga.
- Guntor, A., A., Nickholas., Siang, M., L., J., Alvin. dan Prasetyo, J. 2020. Performance of Silica Gel as Moisture Removal from Mortar. *International Journal of Sustainable Construction Engineering and Technology*. 11(1): 164-174.
- Harum, S. 2022. Analisis Produksi Kopi Di Indonesia Tahun 2015-2020 Menggunakan Metode Cobb-Douglass. *Jurnal Ilmiah Ekonomi Pembangunan*. 1(2): 102-109.
- Hutami, R., Bisyrri, H., Sukarno, S., Nuraini, H. dan Ranasasmita, R. 2018. Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis Dengan Metode *Loop-mediated Isothermal Amplification* (LAMP). *Jurnal Agroindustri Halal*. 4(2): 209-216.
- Irmawati, H. Ehara, Rujito A., Suwignyo, dan Jun Ichi Sakagami. 2015. *Swamp rice cultivation in South Sumatera, Indonesia: an Overview*. *Trop. Agr. Develop.* 59(1): 35-39.
- Kusuma, A.B. 2022. Optimalisasi Ekstraksi DNA Dan PCR Untuk Identifikasi Molekuler Pada 4 Jenis Karang Lunak Berbeda. *Jurnal Enggano*. 7(2), 175-182.
- Liana, T.A.P., Fembriarti, E.P., dan Zainal, A. 2022. Kelayakan Usahatani Kopi Arabika dan Robusta di Kecamatan Way Rantai Kabupaten Pesawaran. *Journal of Food System and Agribusiness*. 3(1): 12-24.
- Magandhi, M., dan Muhammad, R.H. 2020. Variabilitas genetik *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner Berdasarkan Sekuen Internal Transcribed Spacer. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 6(1): 286-293.
- Pesawarankab. 2024. *Wilayah Geografis Pesawaran*. Diakses pada 18 September 2024.
- Perrois C., Susan R. S., Guillaume M., Maud L., Lucie B., Stephane M., Jwanro H., Lucas M., and Isabelle P. 2014. Differential Regulation of Caffeine Metabolism in *Coffea Arabica* (Arabica) And *Coffea Canephora* (Robusta). *Planta*. 241 (10): 179-191.
- Rustiati, L.E., Priyambodo, Dian, N.P, Eko, A.S., Muhammad, F., Andri, W.K., Enny, S., dan Alvin W.S. Management for Gapoktanhut Lestari Sejahtera: Initial Optimization on Robusta Coffee DNA Amplification for Molecular Species Confirmation. *Biovalentia: Biological Research Journal*. 10(1): 44-51.
- Sari, V.K., dan Didik, P.R. 2022. Article Review: Genomic DNA Extraction Method for Plants with High Levels of Polysaccharides and Secondary Metabolites. *Agroteknika*. 5(2): 118-129.
- Satyanarayana, K.V. 2005. *Cloning and Characterization of N-Methyltransferase Gene associated with Caffeine Biosynthesis in Coffee* (Doctoral dissertation, University of Mysore).
- Saiallagan, C. S., Syafi'i, M., Samaullah, M. Y., Susanto, U., Pramudyawardani, E. F., dan Prastika, D. 2022. Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (*Oryza Sativa* L) Menggunakan Marka Ssr (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*. 8(8): 32-37.
- Sofiana, U. R., Sulardiono, B., dan Nitisupardjo, M. 2016. Hubungan kandungan bahan organik sedimen dengan kelimpahan infauna pada

kerapatan lamun yang berbeda di Pantai Bandengan Jepara. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*. 5(3): 135-141.

Tilawah, S., Rafikah, S., dan Pratiwi, A. 2019. Optimasi Volume DNA Marker dan

Volume DNA Hasil Amplifikasi Gen tetL Resistensi Antibiotik Tetrasiklin dari Bakteri *Bacillus cereus* pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Faarmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1): 1-7.