

UJI KUALITAS DAN KUANTITAS DNA BEBERAPA POPULASI POHON KAPUR SUMATERA

Ariani Syahfitri Harahap

Staf Pengajar Program Studi Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian, Universitas Pembangunan Panca Budi, Medan
e-mail : arianisyahfitri@dosen.pancabudi.ac.id

Abstrak

Kapur merupakan penghasil kayu penting karena bernilai ekonomi tinggi. Untuk mengetahui uji kualitas dan kuantitas DNA pohon kapur Sumatera. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan yang dimulai pada bulan Februari sampai dengan Mei 2017. Bahan tanaman yang digunakan di dalam laboratorium adalah sampel daun kering dari pohon kapur yang dikoleksi dari lapangan. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dan isolasi DNA, uji kualitas dan kuantitas DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA memiliki pita yang terang dan tebal terdapat pada aksesi pohon kapur nomor 2, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 25 dan 27 sedangkan pita yang agak tipis dan kurang terang terdapat pada aksesi aren nomor 1, 3, 5, 6, 7, 10, 14, 15, 22, 23, 26, 28, 29 dan 30. Kemurnian DNA yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 1.519 -1.962. Konsentrasi DNA yang dihasilkan berkisar antara 85.3 - 2852 µg/ml.

Kata Kunci: Kapur, uji kualitas, uji kuantitas

PENDAHULUAN

Dryobalanops spp. Dikelompokan dalam suku *Dipterocarpaceae*. Penyebarannya mulai dari Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau dan seluruh Kalimantan. *Dryobalanops* juga dikenal dengan nama Kapur, diantaranya yang penting adalah: *D. aromatica* Gaertn. (Kapur singkel), *D. fusca* V.Sl. (Kapur empedu), *D. lanceolata* Burck (Kapur tanduk), *D. beccarii* Dyer (Kapur sintuk), *D. rappa* Becc. (Kapur kayat), *D. keithii* Symington (kapur gumpait), dan *D. oblongifolia* Dyer atau kapur keladan (Heyne, 1987).

Kapur merupakan penghasil kayu penting karena bernilai ekonomi tinggi. Kayu kapur yang berukuran sedang cocok untuk bangunan konstruksi, untuk membuat tiang, perkapalan, lantai, perabotan, panel jendela, pintu, dinding, dan gerbong kereta (SER, 1981). Kapur juga menghasilkan kristal kapur dan oleoresin yang digunakan untuk pengobatan tradisional (Lim, dkk, 2002).

Saat ini *D. aromatica* yang dikenal dengan pohon kapur semakin sulit ditemukan di habitatnya. Pohon ini termasuk salah satu tanaman langka di Indonesia. Bahkan IUCN Red List memasukkannya dalam status konservasi

critically endangered atau kritis. Status ini merupakan status keterancaman dengan tingkatan paling tinggi sebelum status punah. Penyebaran *D. aromatica* di Pulau Sumatera bagian utara meliputi wilayah Nangroe Aceh Darussalam (NAD) di kota Subulussalam dan Kabupaten Aceh Singkil, sementara di Sumatera Utara terdapat di Kabupaten Pakpak Barat dan Tapanuli Tengah (Gusmailina, 2013).

Keanekaragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dilihat secara langsung atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum keanekaragaman genetik dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain (Suryanto, 2013).

Cara penyerbukan pada tanaman ini belum diketahui secara pasti, diduga dilakukan oleh serangga. Beberapa jenis serangga yang diduga sebagai pollinator antara lain *Trigona spp* dan *Melipona minuta*. Marga Dipterocarpaceae seperti *Dipterocarpus oblongifolius* sebagai polinatornya lebah madu (*Apis sp*) (Al Rasyid *et al*, 1991).

Molekul DNA dalam suatu sel dapat diekstraksi atau diisolasi untuk berbagai macam keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA melalui elektroforesis. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley, 2008; Dolphin, 2008).

DNA hasil isolasi selanjutnya dilakukan cek kuantitas dan kualitas untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan spektrofotometer dan elektroforesis gel.

Uji kualitas DNA dilakukan dengan horizontal elektroforesis, pengecekan hasil isolasi DNA pada gel agarose. Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein diukur pada panjang gelombang 280. Kemurnian larutan DNA dapat dihitung melalui perbandingan A260 nm dengan A280 nm. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8-2,0 (Sambrook *et al.*, 1989).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan yang dimulai pada bulan Februari sampai dengan Mei 2017. Bahan yang digunakan adalah sampel daun kering dari pohon kapur yang dikoleksi dari lapangan. Tempat pengambilan sampel dilakukan di beberapa lokasi di wilayah Sumatera yaitu Subulussalam, Pakpak Barat dan Tapanuli Tengah.

Isolasi DNA pada penelitian ini berdasarkan pada metode isolasi berbasis CTAB menurut prosedur Orozco-Castillo *et al* (1994) yang dimodifikasi dengan penambahan β -Mercaptoethanol dan PVPP (Toruan dan Hutabarat, 1997). Kuantitas setiap DNA hasil isolasi diukur dengan spektrofotometer sedangkan kualitasnya dilihat pada gel elektroforesis 0.8%.

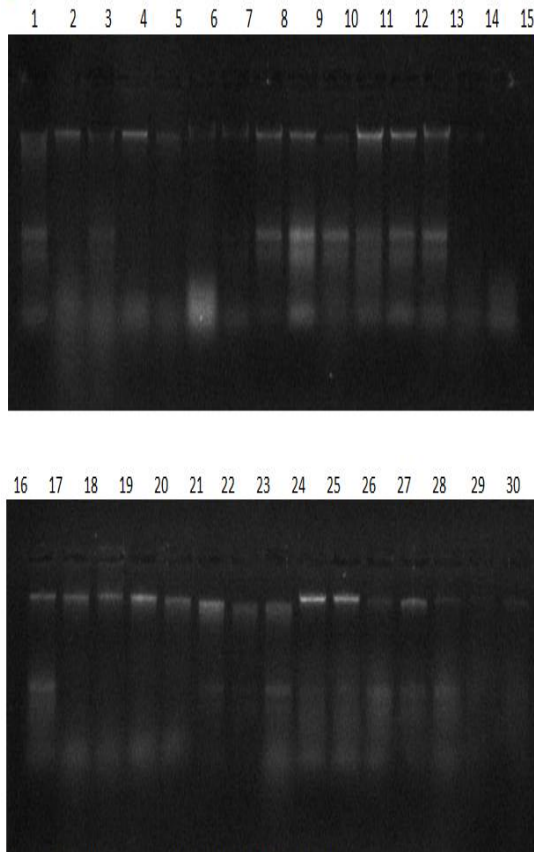
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Uji Kualitas Pohon Kapur

Proses isolasi DNA pohon kapur menggunakan metode Orozco-Castillo *et al* (1994) yang dimodifikasi dengan penambahan β -Mercaptoethanol dan PVPP (Toruan dan Hutabarat, 1997) karena metode ini lebih praktis dan dapat menghasilkan DNA yang baik dari pohon kapur dibandingkan dengan metode lainnya yang telah dicobakan. Uji kualitatif terhadap 30 sampel DNA

dilakukan dengan elektroforesis gel agaros 0.8%. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kualitas DNA yang diperoleh. Hasil yang diperoleh dari 30 sampel DNA pohon kapur dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Elektroforegram uji kualitatif 30 DNA pohon kapur
Ket: Subulussalam (1-20), Pakpak Barat (21-22), Barus (23-30)

2. Uji Kuantitatif Pohon Kapur

Uji kuantitatif DNA dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm sehingga diperoleh nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi. Panjang gelombang 260 nm merupakan serapan maksimum untuk asam nukleat, sedangkan panjang gelombang 280 nm merupakan serapan maksimum untuk protein. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi

No	Sampel	A260	A280	A260/A280	Conc. (ng/ul)
1	S1	0.278	0.178	1.837	549
2	S2	0.056	0.043	1.519	99.5
3	S3	0.685	0.67	1.561	1357
4	S4	0.312	0.212	1.774	573
5	S5	1.285	0.854	1.86	2330
6	S6	1.55	1.095	1.664	2852
7	S7	0.771	0.575	1.579	1337
8	S8	0.447	0.288	1.811	883
9	S9	0.546	0.314	1.934	1201
10	S10	0.424	0.293	1.699	796
11	S11	0.443	0.277	1.834	913
12	S12	0.508	0.314	1.837	1066
13	S13	0.466	0.303	1.804	915
14	S14	1.064	0.79	1.618	1791
15	S15	0.613	0.386	1.863	1221
16	S16	0.979	0.664	1.743	1845
17	S17	0.394	0.276	1.758	687
18	S18	0.317	0.225	1.725	549
19	S19	0.339	0.243	1.744	563
20	S20	0.303	0.215	1.758	512
21	P1	0.162	0.089	1.962	371
22	P2	0.19	0.107	1.943	85.3
23	B1	0.419	0.309	1.629	142
24	B2	0.342	0.215	1.8	144
25	B3	1.071	0.738	1.697	406
26	B4	1.163	0.767	1.778	452
27	B5	1.548	1.063	1.74	570
28	B6	1.545	1.092	1.735	2670
29	B7	0.396	0.276	1.756	699
30	B8	0.067	0.047	1.636	131

B. Pembahasan

1. Uji Kualitas Pohon Kapur

Elektroforegram menunjukkan isolasi DNA telah berhasil, dapat dilihat dari fragmen DNA yang tampak pada gel. Fragmen DNA yang menunjukkan bahwa DNA memiliki pita yang terang dan tebal terdapat pada aksesori pohon kapur nomor 2, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 25 dan 27 sedangkan pita yang agak tipis dan kurang terang terdapat pada aksesori aren nomor 1, 3, 5, 6, 7, 10, 14, 15, 22, 23, 26, 28, 29 dan 30.

DNA genom dapat diisolasi dengan berbagai macam teknik. Pada prinsipnya, sel harus dipecah terlebih dahulu menggunakan beberapa agensia, baik secara fisik maupun kimiawi. Senyawa yang sering digunakan untuk memecah sel pada isolasi DNA genom adalah CTAB. Senyawa CTAB biasanya digunakan untuk isolasi DNA dari jaringan tanaman. Setelah sel dipecah

selanjutnya dilakukan isolasi dan pemurnian DNA (Yuwono, 2008).

Sudjadi (2008) teknik pemecahan sel dapat dibagi dalam metode fisik, metode mekanik, dan metode kimiawi. Sel diperlakukan dengan pemaparan senyawa kimiawi yang mempengaruhi dinding sel. Metode kimiawi lebih banyak digunakan untuk preparasi DNA.

Dalam suatu teknik isolasi DNA masih diperlukan suatu tahapan untuk meminimalkan senyawa-senyawa kontaminan yang dapat mengganggu reaksi PCR seperti polisakarida dan metabolit sekunder. Hal ini disebabkan keberadaan polisakarida dan metabolit sekunder dalam sel tanaman sering menyulitkan dalam isolasi asam nukleat (Maftuchah dan Zainuddin, 2013).

Kandungan senyawa sekunder dalam sel tanaman berbeda-beda, maka setiap tanaman membutuhkan prosedur isolasi yang optimum agar diperoleh DNA genom yang dapat digunakan sebagai bahan dalam analisis molekuler. Optimasi prosedur tersebut dapat dilakukan terhadap komposisi larutan bufer lisisnya ataupun teknik penanganan fisik dalam pemisahan DNA genom dari senyawa lain. Pada prinsipnya optimasi prosedur ini bertujuan melindungi DNA genom dari degradasi akibat senyawa sekunder yang dilepaskan ketika sel dihancurkan atau kerusakan akibat penanganan fisik (Restu *et al.*, 2012).

Pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh. Sedangkan, pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan yang dapat terjadi dalam proses pemipetan, pada saat

dibolak-balik dalam endorf, disentrifus, atau bahkan karena temperature yang terlalu tinggi dan karena aktivitas bahan-bahan kimia tertentu (Irnawati, 2003).

2. Uji Kuantitas Pohon Kapur

Kemurnian DNA yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 1.519-1.962. Dari 30 sampel DNA pohon kapur, sebanyak 11 pohon kapur memiliki nilai kemurnian 1.8-2.0 yang menunjukkan DNA yang diisolasi telah murni (Wilson dan Walker, 2010). Aksesori tersebut yaitu aksesori nomor 1, 5, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 21, 22, dan 24. Namun, ada juga nilai kemurnian sampel DNA di bawah 1.8. Aksesori tersebut yaitu aksesori nomor 2, 3, 4, 6, 7, 10, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 25, 26, 27, 28, 29 dan 30.

Konsentrasi DNA yang dihasilkan berkisar antara 85.3 - 2852 $\mu\text{g/ml}$. Konsentrasi paling rendah diperoleh pada aksesori nomor 22 sebesar 85.3 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan konsentrasi paling tinggi diperoleh pada aksesori nomor 6 sebesar 2852 $\mu\text{g/ml}$.

Prinsip dasar pada spektrofotometri 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. Pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau phenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm. Dengan adanya perbedaan penyerapan cahaya UV ini, sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 ($\text{\AA}260/\text{\AA}280$) dan nilai kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2.0 (Fatchiyah, 2011).

Menurut Haris *et al* (2003), 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.

Konsentrasi hasil ekstraksi DNA dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu kecepatan ekstraksi pada waktu 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 (Komalasari, 2009).

Salah satu keuntungan pemakaian analisis keragaman genetik tanaman dengan menggunakan teknik molekuler yang memanfaatkan teknologi amplifikasi PCR adalah kuantitas DNA yang diperlukan hanya sedikit. Di samping itu, dalam pelaksanaan teknik RAPD tingkat kemurnian DNA yang dibutuhkan tidak perlu terlalu tinggi, atau dengan kata lain teknik amplifikasi PCR relatif toleran terhadap tingkat kemurnian DNA (Maftuchah dan Zainuddin, 2013).

DNA yang sudah diukur konsentrasinya diencerkan sehingga mendapatkan konsentrasi yang seragam untuk digunakan dalam analisis PCR. Selanjutnya dilakukan pengecekan kualitas DNA dengan elektroforesis gel untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA dari kontaminan RNA dan keutuhan DNA hasil isolasi (Syafaruddin dan Santoso, 2011).

KESIMPULAN

1. Fragmen DNA yang menunjukkan bahwa DNA memiliki pita yang terang dan tebal terdapat pada aksesi pohon kapur nomor 2, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 25 dan 27 sedangkan pita yang agak tipis dan kurang terang terdapat pada aksesi aren nomor 1, 3, 5, 6, 7, 10, 14, 15, 22, 23, 26, 28, 29 dan 30.
2. Kemurnian DNA yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 1.519-1.962.
3. Konsentrasi DNA yang dihasilkan berkisar antara 85.3 - 2852 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Rasyid, H, dkk. 1991. Vademikum Dipterocarpeceae. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Departemen Kehutanan.
- Fatchiyah, 2011. Pelatihan analisis fingerprinting DNA tanaman dengan metode RAPD. Modul. Laboratorium sentral ilmu hayati Universitas Brawijaya, Malang.
- Gusmailina. 2013. *Dryobalanops*, Potensi Yang Nyaris Punah.
- Haris, N., Hajrial. A, Nurita. T.M, dan Agus. P. 2003. Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) berdasarkan metode amplified fragment length polymorphisms (AFLP). *Menara Perkebunan* 71(1): 1-15.
- Heyne. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Lim, L.S, R. Wickneswari, S. L. Lee and A. Latif. 2002. Genetic Variation of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) In Peninsular Malaysia Using Microsatellite DNA Markers. *Forest Genetics* 9(2): 125-136.
- Maftuchah dan A. Zainuddin. 2013. Studi Pendahuluan Variasi Genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Lokal Berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA. Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Orozco–Castillo, K.J. Chalmers, R.Waugh & W. Powell, 1994. Detection of Genetic Diversity and Selective Gene Introgression

- In Coffe Using RAPD Markers. *Theor. Appl. Genet.* 87. 934 –940.
- Restu, M, Mukrimin dan Gusmiaty. 2012. Optimalisasi Teknik Ekstraksi dan Isolasi DNA Tanaman Suren (*Toona sureni* Merr.) Untuk Analisis Keragaman Genetik Berdasarkan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). *Jurnal Natur Indonesia* 14(2), Februari 2012: 138-142.
- Sudjadi. 2008. Bioteknologi Kesehatan. Kanisius, Yogyakarta. 279 hlm.
- Suryanto D. 2003. Melihat keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molekuler. *USU Digital Library* [terhubung berkala]. <http://www.library.usu.ac.id/modules.php> [23 November 2013].
- Toruan, Matius, N, dan Hutabarat T. 1997. Pemanfaatan teknik penanda molekuler dalam usaha meningkatkan produktivitas tanaman perkebunan. *Warta Puslit Biotek Perkebunan* II (1): 2-9.
- Wilson, K and J. Walker. 2010. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Cambridge University Press, UK. 761 p.
- Yowono, T. Bioteknologi Pertanian. Gajah Mada University Press.