

Analisis Konsentrasi DNA dan Prediksi Protein Coral

Hamid, Iman Supriatna^{*}, Endang Gunaisah, Muhsuryono, Ismail, Abdul Ghofir

Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong
Jl. Kapitan Pattimura, Tanjung Kasuari-Suprau, Kota Sorong-Papua Barat 98401
Email: imansupriatna.kkp@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the concentration of DNA and proteins Coral predictions based on data from GenBank. DNA isolation technique Pocillopora sp. using tissue and blood DNeasy Kit (Qiagen). DNA concentrations were analyzed using a spectrophotometer and Corl protein prediction by comparing the primers used by the data GenBank (NCBI). DNA concentration of each sample varies between 5.0 ng/μl-20.8 ng/μl in the first purification and between 3.0 ng/μl - 8 ng/μl, where the highest concentration of DNA present in the sample HC2. DNA concentration and purity of samples obtained at HC2 and HC3. Prediction of protein based on data GeneBank is homologous with a NADH dehydrogenase in Corallium konojoi.

Keywords : DNA concentration, genbank, Corallium konojoi.

Pendahuluan

Karang pada umumnya diklasifikasikan sebagai karang batu (*stony Corals*) dalam ordo Scleractinian dan karang lunak (*soft Corals*) termasuk ke dalam ordo Alcyonacea. Indonesia sebagai pusat keanekaragaman karang di dunia, terdapat sekitar 590 spesies dengan 82 genera [1,2,3]. Membentang pada wilayah dengan luas antara 50.000 km² sampai dengan 100.000 km² [4]. Tingginya keragaman jenis karang di Indonesia serta potensi nilai ekonomi yang dimilikinya telah mendorong eksploitasi secara luas dan mengancam keberlanjutannya.

Di bidang pengembangan ilmu pengetahuan, riset-riset tentang hewan laut terutama invertebrata juga semakin luas, yaitu dengan berkembangnya bidang kajian bioteknologi. Invertebrata sendiri diperkirakan sekitar 60% dari seluruh keanekaragaman hewan laut [5]. Invertebrata laut ini banyak menghasilkan bahan kimia alami hasil metabolisme sekunder yang sangat penting untuk pertahanan dirinya, yang sering dikenal dengan istilah *natural products* (NP) [6,7]. Symbion (*zooxanthellae*, bakteri) yang berasosiasi dengan invertebrata laut seperti sponge dan Coral berperan

besar dalam menghasilkan metabolisme sekunder [8,9]. Kelimpahan dan keberagaman NP tersebut memiliki keaktifan biologi (bioaktivitas) dan mempunyai peluang besar sebagai kandidat bahan obat-obatan [6].

Metode Penelitian

Teknik isolasi DNA *Pocillopora* sp. dengan menggunakan *Kit Dneasy and blood tissue* (Qiagen). Alat-alat yang diperlukan meliputi : mikrosentrifuse, vortex-mixer, waterbath, lemari es, dan rak *microtube*. Konsentrasi DNA dianalisa menggunakan Spektrofotometer dan prediksi protein corl dilakukan dengan membandingkan primer yang digunakan dengan data genbank (NCBI).

Hasil dan Pembahasan

▪ Analisis konsentrasi dna dengan spektrofotometer

Secara kualitas DNA dilihat dengan spektrofotometer, kemudian dihitung nilai kemurnian dan konsentrasinya menggunakan persamaan [10].

$$\text{Konsentrasi (C)} = [\text{Absorbansi pada } \lambda_{A_{260}} \times \text{Faktor C}]$$

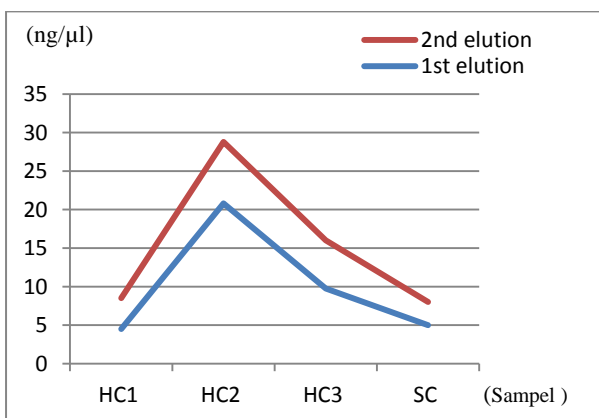
$$\text{Rasio Kemurnian DNA} = \frac{(\text{Abs pada } \lambda_{A_{260}} - \text{Abs pada } \lambda_{A_{320}})}{(\text{Abs pada } \lambda_{A_{280}} - \text{Abs pada } \lambda_{A_{320}})}$$

Keterangan : Faktor C = 50 µg/ml (konversi unit dari DNA untai ganda)

Tabel 1 menunjukkan hasil analisis ekstraksi sampel *Coral*. Kemurnian DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA (A260 : A280), dimana hasil isolasi DNA dikatakan murni jika nilai rasio A260/A280 antara 1.8 – 2.0 [10]. Nilai rasio A260/A280 dalam penelitian ini yang memiliki nilai murni pada pemurnian pertama (*1st elution*) adalah sampel HC2 dengan nilai kemurnian 1.930 dan HC3 dengan nilai kemurnian 1.857, sedangkan pada pemurnian kedua (*2nd elution*) semua sampel memiliki nilai kemurnian di bawah 1.8. Adapun konsentrasi DNA masing-masing sampel bervariasi antara 5.0 ng/µl – 20.8 ng/µl pada pemurnian pertama dan antara 3.0 ng/µl – 8 ng/µl, dimana konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel HC2. Konsentrasi DNA *Coral* dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Ekstraksi Sampel *Coral*

No	Sampel	ng/µl	260/ 280	260/ 230	Keterangan
1	HC1	4.5	1.636	0.375	1 st elution
2	HC2	20.8	1.930	0.838	1 st elution
3	HC3	9.750	1.857	2.786	1 st elution
4	SC	5.0	1.667	0.312	1 st elution
5	HC1	4.0	1.600	-	2 nd elution
6	HC2	8.0	1.778	1.882	2 nd elution
7	HC3	6.25	1.667	12.5	2 nd elution
8	SC	3.0	1.500	3.000	2 nd elution



Gambar 1. Konsentrasi DNA *Coral*

▪ Analisis Prediksi Protein Coral Berdasarkan Data Genebank

Prediksi protein *Coral* dari data *GeneBank* berdasarkan jenis primer yang digunakan pada sampel *Coral* yaitu primer spesifik [11]:

ANTMTSSU-F, 5-AGC CAC ACT TTC ACT GAA ACA AGG-3, and
ANTMTSSU-R, 5-GTT CCC YYW CYC TYA CYA TGT TAC GAC-3

Gambar 2 memperlihatkan analisis NCBI. Hasilnya Sampel kemungkinan akan homolog dengan data *GeneBank* ORGANISM *Corallium konojoi* Eukaryota; Metazoa; Cnidaria; Anthozoa; OctoCorallia; Alcyonacea; Scleraxonia; Coralliidae; *Corallium*. Hasil analisis dengan prosite dapat dilihat pada Gambar 3.

NADH dehydrogenase subunit 1 pada *Corallium konojoi* no 1-323

• Signature 1:

GLLQPLADGLKLFKSKE : 2 *Glycine* (G), 5 *Leucine* (L), *Glutamine* (Q), *Proline* (P), *Alanin* (A), *Aspartic Acid* (D), 2 *Lysine* (K), *Phenylalanine* (F), *Serine* (S), *Glutamic Acid* (E).

• Signature 2:

PFDLTEGESELVAG : *Proline* (P), *Phenylalanine* (F), *Aspartic Acid* (D), 2 *Leucine* (L), *Threonine* (T), 3 *Glutamic acid* (E), 2 *Glycine* (G), *Serine* (S), *Valine* (V), *Alanine* (A)

NCBI Resources How To

Protein Protein Advanced

Display Settings: FASTA Send

NADH dehydrogenase subunit 1 (mitochondrion) [Corallium konojoi]

GenBank: BAK18831.1

[GenPept](#) [Identical Proteins](#) [Graphics](#)

```
>gi|328750570|dbj|BAK18831.1| NADH dehydrogenase subunit 1 (mitochondrion) [Corallium konojoi]
MISTIIISILKTLAIIPLLVAIAYLTLAERKVLGYMQARKGNVVGYYGLLQPLADGLKLFsKE*
HANLSVYIVAPILSLTLAF LAWGVIPFSPGVVLADINVGILYVFAISSIGVYAILMSGWGSNSKYAFLGA
IRAAQMISYEVCIGLILISVILCAGSLNITQIVLAQAEIWIYIPLFPAALMFFASALAE TNRAPFDL TE
GESELVAGYVVEYSSMSFALFFLA EYGHIIIMSCLISLLFLGGWAPFTGIFGMGLALKTTT VVTFVWV
RASFRMRDQLMYLLWKSYLPFSLGLLIVLVSGLLIGLDAVPC
```

Gambar 2. Hasil analisis dengan NCBI

found: 2 hits in 1 sequence

USERSEQ1 (323 aa)

```
MISTIIISILKTLAIIPLLVAIAYLTLAERKVLGYMQARKGNVVGYYGLLQPLADGLKLFsKE*
VIPNHAILSVYIVAPILSLTLAF LAWGVIPFSPGVVLADINVGILYVFAISSIGVYAILMSGWGSN
SKYAF LGATRRAAQMISYEVCIGLILISVILCAGSLNITQIVLAQAEIWIYIPLFPAALMFFASAL
AETNRAPFDL TEGESELVAGYVVEYSSMSFALFFLA EYGHIIIMSCLISLLFLGGWAPFTGIFGMG
CLALKTTT VVTFVWRASFRMRDQLMYLLWKSYLPFSLGLLIVLVSGLLIGLDAVPC
```

Legend:

- disulfide bridge
- active site
- other 'ranges'
- other sites

Please note that the graphical representations of domains displayed hereafter are for illustrative purposes only, and that their colors and shapes are not intended to indicate homology or shared function. For more information about how these graphical representations are constructed, go to <http://prosite.expasy.org/mydomains/>.

hits by patterns: [2 hits (by 2 distinct patterns) on 1 sequence]

ruler: 1 100 200 300 400 500 600 700 800 900 1000

USERSEQ1 (323 aa)

PS00667 COMPLEX1_ND1_1 Respiratory-chain NADH dehydrogenase subunit 1 signature 1 :
50 - 65: [confidence level: (0)] GLLQPLADGLKLFsKE

PS00668 COMPLEX1_ND1_2 Respiratory-chain NADH dehydrogenase subunit 1 signature 2 :
205 - 218: [confidence level: (0)] PFDLTEGEseLVa.G

Gambar 3. Hasil Analisis dengan Prosite

Kesimpulan

- Konsentrasi dan kemurnian DNA didapat pada sampel HC2 dan HC3
- Prediksi protein berdasarkan data GeneBank adalah homolog dengan NADH dehydrogenase pada *Corallium Konojoi*

Daftar Pustaka

- [1] Best, M.B., B.W.Hoeksema, W.Moka, H.Moll, Suharsono, and I.N. Sutarna. 1989. Recent scleractinian Coral species collected during the Snellius II Expedition in eastern Indonesia. *Net.J. Sea. Res.* 23 : 107-115
- [2] Wallace, C., G. Paulay, B.W.Hoeksema, D.R.Bellwood, P.A.Hutching, P.H. Baber, M.Erdman, and J.Wolstonholme. 2000. Nature and origins of unique high diversity reefs faunas in the Bay of Tomini Central Sulawesi : The ultimate "Center of Diversity". *Proc 9 th Int. Coral Reef. Symp.* Bali. Indonesia. I. 185-192.

- [3] Veron, J. 2002. Reefs Corals of the Raja Ampat Islands, Papua prvince, Indonesia. In : Rapid assessment Program. SA Mc Kenna (Eds). CI: 26-29.
- [4] Bentley, N. 1998. An overview of the exploitation, trade and management of Corals in Indonesia. *TRAFFIC Bulletin*. 17(2): 67-78.
- [5] Ausubel, J., D.T., Crist, P.E.Waggoner. 2010. *First Census of Marine Life .2010. Highlights of a decade of discovery*. Washington DC: Census of Marine Life. 68 p.
- [6] Faulkner, D. 2000. Marine pharmacology. *Antonie van Leeuwenhoek*. 77:135–145
- [7] Haefner, B. 2003. Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discovery Today* 8: 536–544.
- [8] Putra, M.Y. 2010. Bioactive Marine Natural Products From the Indonesian Soft Coral *Sinularia* sp. (order Alcyonacea, family Alcyoniidae). *PhD Thesis*. UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE FACULTY OF SCIENCE.
- [9] Macintyre, L., T.Zhang, C.Viegelmann, I.J.Martinez, C.Cheng, C.Dowdells, U.R.Abdelmohsen, C.Gernert, U.Hentschel, and R.Edrada-Ebel. 2014. Metabolomic tools for secondary metabolite discovery from marine microbial symbionts. *Mar. Drugs*. 12: 3416—3448.
- [10] Sambrook. J., E.F. Fritsch and T. Manathis. 1989. *Molecular Cloning*. Second edition. Cold Spring Harbor Lab. Press. New York. USA. P 568-600.
- [11] Nordemar, J; M Nystrom; R Dizon; 2003. Effect of elevated seawater temperature and nitrat enrichment on the branching Coral *Porites cylindrica* in the absence of particular food. *Mar. Biol.* 142 : 669-672).