

**ISOLATION OF DNA FROM LOCAL MALAY PLANTS RIAU
AS A DESIGN OF STUDENT WORKSHEET BASED ON
A SCIENTIFIC APPROACH ON THE SUBJECT
OF GENETIC MATERIAL FOR 12TH
GRADE HIGH SCHOOL**

Rapika Sirait ¹⁾, Imam Mahadi ²⁾, Evi Suryawati ³⁾

Rapika1sirait@gmail.com, i_mahadi@yahoo.com, evien_riau@yahoo.co.id
Telp: +6281372807425

Program Study of Biology Education
Faculty of Teacher Training and Education
University of Riau

Abstract : *This study aims to determine the results of DNA isolation from seroja and tenggek burung leaves based on the different buffers used namely CTAB, rinso detergent and sunlight soap and produce the worksheet design based on scientific approach in material genetic subject for high school 12th grade. This research was conducted in two stages, namely the experimental activities of DNA isolation and the design worksheet stage of analysis and design. The type of research is laboratory descriptive research. The parameters measured in the study are the presence of DNA and DNA concentration. The results of the study showed that DNA isolation of seroja and tenggek burung leaves was successfully carried out using CTAB buffer and rinso detergent. The presence of DNA can be seen in the supernatant during administration of isopropanol and in the DNA band during electrophoresis. The highest DNA quantity (DNA concentration) was found in the samples of tenggek burung with Rinso detergent TNC detergent of 50 ng/μl and seroja with rinso detergent NC of 20 ng/μl. The DNA quantity using the highest CTAB buffer was found in the CTAB TNC seroja sample of 5 ng/μl and the dead CTAB TNC was 4 ng/μl. While the isolation of DNA with sunlight soap buffer was not successfully carried out. Therefore, it can be concluded that the rinso detergent buffer is more appropriately used for simple DNA isolation experiments in the worksheet designed.*

Key words: *DNA isolation, local plant (seroja and tenggek burung), worksheet*

ISOLASI DNA TUMBUHAN LOKAL MELAYU RIAU SEBAGAI RANCANGAN LKPD BERBASIS PENDEKATAN SAINTIFIK PADA MATERI GENETIK SMA KELAS XII

Rapika Sirait¹⁾, Imam Mahadi²⁾, Evi Suryawati³⁾

Rapika1sirait@gmail.com, i_mahadi@yahoo.com, evien_riau@yahoo.co.id

Telp: +6281372807425

Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Riau, Pekanbaru 28293

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil isolasi DNA daun seroja (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) dan tenggek burung (*Euodia roxburghiana* Cam.) berdasarkan perbedaan buffer yang digunakan yaitu CTAB, detergen rinso dan sabun sunlight serta menghasilkan rancangan LKPD berbasis pendekatan saintifik pada materi genetik kelas XII SMA. Penelitian ini dilaksanakan dengan 2 tahap yaitu kegiatan eksperimen isolasi DNA dan tahap perancangan LKPD melalui tahapan analisis dan desain. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif laboratorik. Parameter yang diukur pada penelitian yaitu keberadaan DNA dan konsentrasi DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi DNA daun seroja dan tenggek burung berhasil dilakukan dengan baik menggunakan buffer CTAB dan detergen rinso. Keberadaan DNA dapat terlihat pada supernatan saat pemberian isopropanol dan pada pita DNA saat elektroforesis. Kuantitas DNA (konsentrasi DNA) tertinggi terdapat pada sampel tenggek burung dengan detergen Rinso TNC sebesar 50 ng/μl dan seroja rinso NC sebesar 20 ng/μl. Kuantitas DNA menggunakan buffer CTAB tertinggi terdapat pada sampel seroja CTAB TNC sebesar 5 ng/μl dan tenggek burung CTAB TNC sebesar 4 ng/μl. Sedangkan isolasi DNA dengan buffer sabun sunlight tidak berhasil dilakukan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa buffer detergen rinso lebih tepat digunakan untuk eksperimen isolasi DNA secara sederhana pada LKPD yang dirancang.

Kata kunci: Isolasi DNA, Tumbuhan lokal (seroja dan tenggek burung), LKPD

PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan ilmu biologi yang didukung dengan teknologi saat ini menjadikan abad 21 disebut abad Biologi khususnya bidang genetika (Yulaikah, 2015). Genetika mengalami perkembangan pesat sejak ditemukan kromosom dan gen. Berbagai aspek kehidupan memerlukan informasi di tingkat genetik DNA untuk memecahkan persoalan. Perkembangan genetika yang sangat pesat memerlukan Sumber Daya Manusia (SDM) yang andal agar dapat menghasilkan temuan penelitian yang dapat membantu meningkatkan kesejahteraan hidup manusia dan makhluk hidup lainnya (Elya Nusantara, 2013). Untuk menciptakan SDM yang andal diperlukan pembelajaran yang berkualitas untuk meningkatkan pemahaman siswa.

Fakta menunjukkan bahwa penguasaan materi genetika masih kurang. Materi genetika dirasakan sulit oleh sebagian besar peserta didik SMA karena materi ini bersifat abstrak dan jauh dari kehidupan sehari-hari (Boujemaa *et al.*, 2010; Corebima, 2009; Rufa Hera, 2017). Kesulitan peserta didik tersebut juga disebabkan karena guru belum pernah melakukan demonstrasi ekstraksi DNA untuk meyakinkan peserta didik mengenal wujud DNA secara kontekstual. Selain itu pada Musyawarah Guru Mata Pelajaran (MGMP) di Pekanbaru belum banyak guru yang mengembangkan LKPD atau modul mengenai materi genetika khususnya DNA.

Menurut Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Atas (2017), LKPD akan memberi manfaat bagi guru dan peserta didik. Guru akan memiliki bahan ajar yang siap digunakan, sedangkan peserta didik akan mendapat pengalaman belajar mandiri dan memahami tugas tertulis pada LKPD. Oleh karena itu, bahan ajar yang disusun perlu memperhatikan hubungan diantara konsep agar bermakna bagi pemahaman siswa.

Salah satu alternatif pembelajaran yang dapat dilakukan ialah melalui praktikum isolasi DNA. Isolasi DNA merupakan langkah yang tepat untuk mempelajari DNA. Prinsipnya untuk memisahkan DNA dari tanaman yang diekstraksi (Ari Indriana, 2015). Sampel tumbuhan yang digunakan adalah Lotus dan Tenggek burung. Lotus adalah spesies tumbuhan air tahunan dari genus *Nelumbo* yang berasal dari India dan dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional (Mahat Magandhi, 2015). Sedangkan tenggek burung adalah tumbuhan terestrial yang tumbuh secara liar. Tersebar di wilayah tropis dari pulau Mascavene, bagian timur dan selatan benua Asia dan juga ke arah timur Polinesia (Karim, *et al.*, 2011).

Tumbuhan seroja dan tenggek burung merupakan flora lokal Melayu Riau. Seroja dimanfaatkan oleh masyarakat Melayu di Riau dalam upacara adat perkawinan, bahan pengobatan tradisional dan sebagai bahan pangan. Tenggek burung dimanfaatkan sebagai bahan pangan berupa lalapan di daerah Siak dan bahan dalam pengobatan tradisional. Oleh karena itu, selain untuk mengetahui manfaat tumbuhan tersebut, penggunaan tanaman ini dalam proses pembelajaran, akan membantu peserta didik untuk mengenal potensi tumbuhan lokal. Sehingga dapat menanamkan nilai kearifan lokal dalam kegiatan belajar.

Buffer yang digunakan pada proses isolasi DNA adalah buffer CTAB, detergen Rinso dan sabun *sunlight*. Ketiga jenis buffer digunakan sebagai buffer lisis sel. Buffer CTAB merupakan buffer standar yang digunakan dalam isolasi DNA yang mengandung komponen dan konsentrasi garam yang tinggi. Buffer ini berperan dalam pelisisan sel yang mampu menghilangkan polisakarida. Buffer detergen Rinso dan sabun *sunlight* merupakan buffer sederhana yang berperan untuk melarutkan lipid yang terkandung pada dinding sel.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika Program Studi Biologi FMIPA Universitas Riau. Pelaksanaan penelitian pada bulan September-November 2018. Penelitian ini menggunakan rancangan deskriptif laboratorik yang terdiri dari tahap eksperimen dan tahap perancangan LKPD. Sampel terdiri dari 12 buah (6 sampel daun seroja dan 6 sampel tenggek burung). Buffer ekstraksi yang digunakan yaitu CTAB, detergen rinso dan sabun *sunlight*. Masing-masing terdiri atas 2 sampel CTAB, 2 sampel detergen rinso dan 2 sampel sabun *sunlight*. Dan setiap buffer diberi perlakuan nitrogen cair dan tanpa nitrogen cair. Hal ini bertujuan untuk membedakan efektifitas pelisisan pada dinding sel tumbuhan berdasarkan hasil elektroforesis.

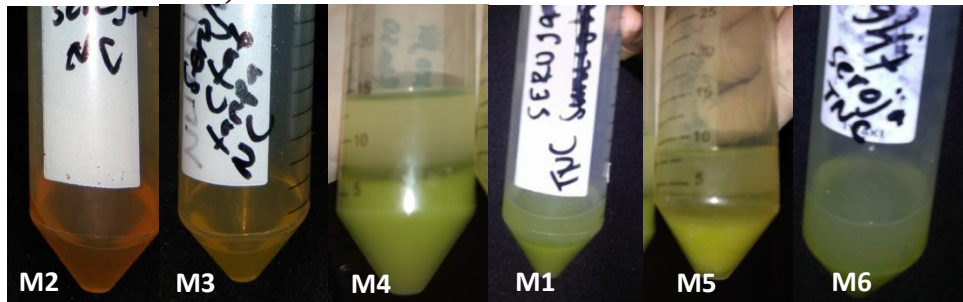
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yakni: Plastik dan gunting untuk mengambil sampel daun. Alat untuk isolasi DNA: mortal, pestle, spatula, kertas aluminium, tisu, tabung mikro 50 ml, rak tabung mikro, pipet mikro berbagai ukuran, tipmikro untuk pipet mikro, timbangan analitik, *waterbath*, mesin sentrifus (4000 rpm), *hot plate*, *stirrer*. Perangkat elektroforesis (Fisans Model FEC 360, *large horizontal Gel System*), sisir, cetakan gel agarose, *UV transilluminator* (*wiseuv WUV-M20, Daihan Scientific*) dan kamera (*Olympus SP-500 UZ*). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun seroja dan Tenggek Burung yang masih muda. Bahan kimia yang digunakan untuk isolasi DNA adalah alkohol, garam dapur, buffer sabun *sunlight*, detergen Rinso dan buffer CTAB (komposisi: 1M Tris HCl pH 8; 0,5M EDTA pH 8; 5M NaCl; 0,2% 14M β -ME; 2% CTAB, Aquabidestilata), kloroform (CIAA), isopropanol, TE (0,5 M EDTA pH 8,0 dan 1M Tris-HCl pH 8,0). Bahan untuk elektroforesis adalah 1x TBE, etidium bromide (EtBr) 1 μ l, *loading dye* 2 μ l, 1 % gel agarose (0,5 gr bubuk agarose + 50 ml air + 1x buffer TBE), 1 kb DNA *ladder* (*ThermoScientific*) dan akuabidestilata steril (dH₂O). Uji kualitatif yaitu perkiraan keberadaan DNA yang ditunjukkan dengan adanya pita (*band*) yang jelas dan utuh. Sedangkan uji kuantitatif yaitu memperkirakan konsentrasi DNA dengan melihat pita DNA dan mencocokkannya dengan ukuran pada marker 1 kb ladder dan Lambda Hind III. Satuan konsentrasi DNA yang digunakan adalah ng/ μ l. Hasil isolasi DNA terbaik dijadikan rancangan LKPD berbasis pendekatan saintifik pada materi genetik kelas XII SMA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

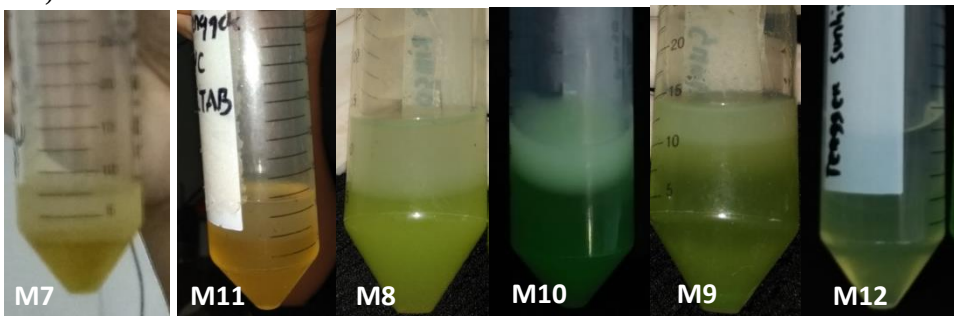
A. Hasil Isolasi DNA Daun Seroja dan Tenggek Burung

1. Keberadaan DNA berdasarkan ketebalan supernatan

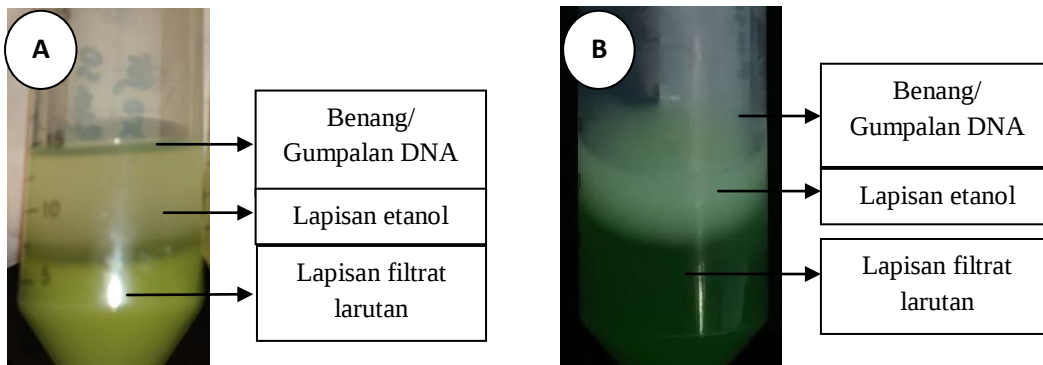
Hasil pengamatan terhadap keberadaan DNA dilihat dari benang benang putih pada lapisan atas tabung saat tahap ekstraksi dengan pemberian isopropanol dingin melewati dinding tabung reaksi. Dari 12 sampel yang diuji, keberadaan DNA dapat dilihat pada sampel seroja rinso dan sampel tenggek burung buffer CTAB, rinso (gambar 4.1 dan 4.2).



Gambar 1 Keberadaan DNA pada sampel daun seroja. **M2.** seroja CTAB NC (nitrogen cair). **M3.** seroja CTAB TNC (tanpa nitrogen cair). **M4.** seroja rinso NC (nitrogen cair). **M1.** seroja rinso TNC (tanpa nitrogen cair). **M5.** seroja *sunlight* NC (nitrogen cair). **M6.** seroja *sunlight* TNC (tanpa nitrogen cair).



Gambar 2 Keberadaan DNA pada sampel tenggek burung. **M7.** Tenggek CTAB NC (nitrogen cair). **M11.** Tenggek CTAB TNC (tanpa nitrogen cair). **M8.** Tenggek rinso NC. **M10.** Tenggek rinso TNC. **M9.** Tenggek *sunlight* NC. **M12.** Tenggek *sunlight* TNC.



Gambar 3 Keberadaan DNA. **A.** Seroja detergent rinso. **B.** Tenggek burung detergent rinso.

Terbentuknya benang-benang/gumpalan DNA tersebut merupakan hasil dari tahapan yang dilakukan dengan menggunakan senyawa tertentu. Gumpalan DNA menunjukkan keberadaan DNA pada sampel. Hal ini kemudian dibuktikan dengan proses elektroforesis untuk mengetahui kualitas dan kuantitas DNA total yang diperoleh melalui pita DNA. Tahap awal isolasi DNA adalah pelisisan atau penghancuran dinding sel. Tahap pelisisan sel memiliki beberapa cara yakni cara fisik melalui penggerusan ditambah nitrogen cair dan cara kimia dengan pemberian detergen rinso dan sabun *sunlight*. Nitrogen cair memiliki suhu sangat rendah -196°C yang dapat membekukan sel sehingga lebih mudah digerus. Dinding sel yang telah terdegradasi mengakibatkan DNA beserta isi sel keluar. Pelisisan dinding sel secara kimiawi dilakukan dengan pemberian buffer sabun *sunlight* detergen rinso dan CTAB. Penggunaan detergen dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi. Detergen berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA (Switzer, 1999). DNA yang masih tercampur dengan kontaminan meliputi lemak, polisakarida, fenolik dan protein dipisahkan melalui proses ekstraksi. Sabun dan detergen tersusun atas bagian kepala (hidrofilik) dan ekor (hidrofobik). Bagian kepala akan berikatan dengan air sedangkan bagian ekor berikatan dengan lemak/lipid. Gugus nonpolar (ekor) akan menarik partikel lemak kemudian terdispersi ke lapisan air dan akhirnya larut. Pada saat penggerusan, sampel daun juga diberi NaCl/garam. Ini berfungsi untuk meningkatkan kelarutan polisakarida pada isopropanol sehingga polisakarida tidak akan mengendap bersama DNA saat sentrifugasi.

Selanjutnya sampel detergen Rinso dan sabun *sunlight* disaring menggunakan tisu untuk memisahkan filtrat dengan ampas daun. Untuk menghilangkan bahan lain yang tidak diinginkan pada sampel rinso/*sunlight*, hasil filtrasi sampel selanjutnya diberi senyawa isopropanol. Proses ini akan mengendapkan DNA sehingga DNA menggumpal membentuk suatu fiber. Setelah penambahan isopropanol dingin secara perlahan, akan terbentuk 3 lapisan pada tabung reaksi. Lapisan atas supernatan yang mengandung DNA, lapisan tengah mengandung isopropanol dingin dan lapisan bawah berupa filtrat. Lapisan terbentuk akibat perbedaan berat dan ukuran molekulnya. Molekul besar akan mengendap pada lapisan bawah, ukuran molekul sedang berada di tengah dan molekul paling ringan berada di lapisan atas.

Pada metode CTAB, sel tumbuhan diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti kloroform dan isoamil alkohol (CIAA). Kloroform mendenaturasi protein sedangkan isoamil alkohol untuk menghilangkan busa. Sampel CTAB disaring dengan cara sentrifugasi. Penambahan larutan organik menyebabkan campuran membentuk lapisan. Lapisan atas (supernatan) mengandung DNA dan RNA karena bersifat polar oleh muatan negatif atom O pada gugus fosfat yang berinteraksi dengan muatan dipole positif air (Switzer & Garrity, 1999). Protein yang terdenaturasi akan masuk diantara lapisan organik dan air. CIAA yang memiliki densitas paling tinggi akan berada di dasar tabung setelah sentrifus. Kemudian supernatan dipisahkan dari pellet. Supernatan diberi isopropanol dingin untuk memekatkan DNA dan menghilangkan residu kloroform. Serta menurunkan aktivitas molekul air sehingga DNA akan menggumpal membentuk struktur fiber.

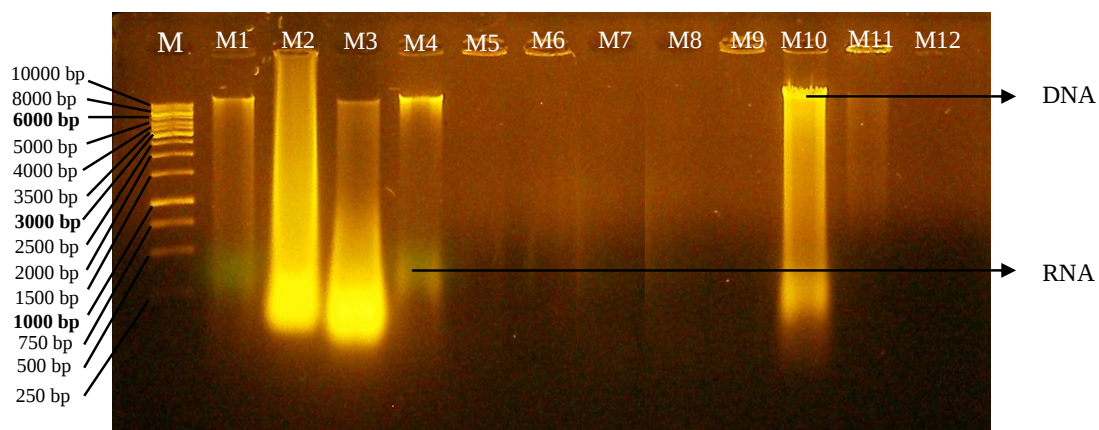
Hasil isolasi awal menunjukkan bahwa daun seroja lebih mudah di ekstraksi dibandingkan daun tenggek burung. Hal ini terlihat saat proses penggerusan. Daun tenggek burung lebih sulit digerus. Tenggek burung merupakan jenis tumbuhan tinggi yang memiliki kandungan polisakarida dan senyawa fenolik yang lebih tinggi

dibandingkan jenis tanaman lainnya. Hal ini dapat dilihat dari perawakan daun tenggek burung yang lebih kaku dan mengkilap. Sedangkan seroja merupakan tanaman akuatik dan termasuk tanaman herba yang memiliki struktur daun yang tidak kaku. Dinding sel daun seroja adalah 24-60 x 15-43 μm (Ya Li, *et al.*, 2016).

2. Hasil elektroforesis (Keberadaan DNA)

Isolasi DNA daun seroja dan tenggek burung diberi perlakuan buffer berbeda yaitu buffer CTAB, detergen rinso dan sabun *sunlight*. Sampel terdiri dari 12 buah (6 sampel daun seroja dan 6 sampel tenggek burung). Keduabelas sampel daun pada tahap pelisisan, ada yang diberi nitrogen cair dan ada yang tidak. Hal ini bertujuan untuk membedakan efektifitas pelisisan pada dinding sel tumbuhan, yang dilihat dari hasil elektroforesis.

Pelisisan dinding sel merupakan langkah penting yang sangat mempengaruhi keberhasilan isolasi DNA. Setelah isolasi DNA dilakukan, tahap selanjutnya ialah elektroforesis. Teknik ini digunakan untuk memudahkan peneliti dalam memperkirakan ukuran dan konsentrasi DNA.



Gambar 4 Elektroforesis . Profil DNA genomik daun tumbuhan seroja dan tenggek burung

Pada gambar 4.4 pita DNA tampak pada beberapa sampel. Pita DNA yang tebal menunjukkan kualitas DNA yang dihasilkan. Setelah pemberian isopropanol dingin, sampel kemudian di sentrifugasi untuk membentuk pellet DNA pada dasar tabung reaksi. Selanjutnya pellet dikeringkan kemudian diberi TE untuk menjaga DNA tetap stabil, inkubasi pada suhu ruangan selama 24 jam dan DNA siap di elektroforesis.

Dalam penelitian ini, isolasi DNA tanaman Seroja berhasil dilakukan dengan metode CTAB (Doyle and Doyle, 1990) dan SDS (buffer Rinso). Berdasarkan gambar 4.4, isolasi DNA daun seroja menggunakan buffer CTAB (sampel M2 dan M3) menunjukkan hasil kurang baik. Sampel M2 (CTAB NC) terlihat *smear* dan tidak tampak pita DNA nya. Hal ini disebabkan karena kemungkinan hasil isolasi DNA masih banyak mengandung RNA, polisakarida maupun protein. Kandungan RNA yang tinggi pada sampel M2 dan M3 dapat dilihat dari pendaran cahaya yang terang pada bagian bawah sumur gel. Kontaminasi RNA dapat dipisahkan dengan cara pemberian RNAase. Selain itu pita DNA yang *smear* pada sampel M2 menunjukkan bahwa DNA terpotong

potong. Hal ini dapat disebabkan karena proses penggerusan yang terlalu kuat sehingga saat isi sel keluar DNA menjadi rusak atau terpotong.

Pada sampel M3 (CTAB TNC) hasil isolasi tanpa nitrogen cair menunjukkan hasil cukup baik yaitu pita DNA sudah tampak namun tipis dan *smear*. Hal ini sesuai dengan Utami, *et al* (2012), yang menyatakan bahwa hasil isolasi DNA tanaman tanpa nitrogen cair menunjukkan hasil cukup baik namun *smear*. Kualitas DNA dapat dikatakan baik apabila pita DNA yang dihasilkan tebal, terang, jelas dan tidak *smear*. Pita DNA yang *smear* menurut Fatchiyah, *et al.*, (2011) adalah pita DNA yang terpotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil karena adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan karena gerakan berlebihan saat proses pemipetan, pada saat bolak balik, temperatur yang tinggi serta jumlah buffer yang terlalu tinggi.

Menurut Asem, *et al* (2015) CTAB dapat digunakan untuk mendapatkan DNA berkualitas tinggi pada tumbuhan yang mengandung polisakarida dan senyawa polifenol. Penambahan konsentrasi NaCl diatas 0,5 M dan 1 M dapat meningkatkan kelarutan polisakarida sehingga lebih mudah dihilangkan. Kandungan Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) pada CTAB berperan dalam menginaktivasi enzim DNAase yang dapat mendenaturasi DNA yang di isolasi. Buffer CTAB bersifat basa akibat adanya senyawa detergen Mercaptoethanol (Surzycky, 2003).. Reagen ini berfungsi sebagai detergen dan toksik sehingga mampu menghilangkan polifenol melalui proses oksidasi. Saat polifenol teroksidasi senyawa ini akan berikatan kovalen dengan DNA dan pada saat penambahan alkohol akan ikut terendap bersama DNA (Kristianto, 2016).

Perlakuan isolasi DNA daun seroja menggunakan buffer detergen Rinso (sampel 1 dan 4) menunjukkan hasil baik. Pada sampel M1 (TNC), pita DNA/*band* sudah tampak namun lebih tipis dibandingkan sampel M4 (NC). Ekstraksi menggunakan nitrogen cair untuk melisis dinding sel dapat mengeluarkan isi sel. Hal ini menunjukkan bahwa nitrogen cair dapat berperan lebih efektif pada proses pelisisan dibandingkan sampel tanpa nitrogen cair. Sehingga hasilnya tampak pada pita DNA yang lebih jelas dan tebal. Menurut Hikmah (2013), sampel DNA yang tervisualisasi sebagai pita terang dan tebal memiliki konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi.

Pita DNA yang tampak jelas dan tebal juga disebabkan karena Rinso memiliki kandungan surfaktan ABS (Alkyl Benzene Sulfonat). Kandungan surfaktan ABS menyebabkan daya cuci detergen lebih kuat dibandingkan sabun lain. Penambahan detergen dalam isolasi DNA dapat menyebabkan rusaknya membran sel, melalui ikatan yang dibentuk melalui sisi hidrofobik detergen dengan protein dan lemak pada membran membentuk senyawa “lipid protein-detergen kompleks”. Senyawa tersebut dapat terbentuk karena protein dan lipid memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik, demikian juga dengan detergen, sehingga dapat membentuk suatu ikatan kimia. Selain itu, kandungan detergen dapat menginaktivasi enzim DNAase yang dapat mendenaturasi DNA yang diisolasi. Detergen menginaktivasi enzim nuklease dengan cara mengikat ion magnesium dan kalsium yang dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNAase (Corkill dan Rapley, 2008).

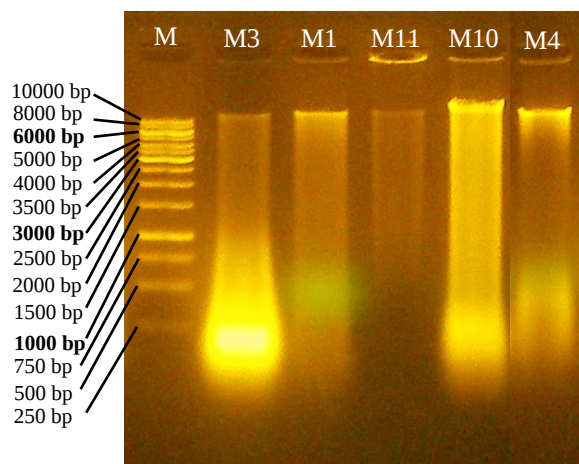
Berdasarkan gambar 4.4, isolasi daun tenggek burung berhasil dilakukan (sampel M10 dan M11). Sampel tenggek burung TNC (M10) menunjukkan pita DNA yang jelas dan tebal. Hal ini disebabkan karena daun tenggek burung yang digunakan lebih muda dibanding dengan daun pada elektroforesis. Sehingga pita DNA tampak pada beberapa sampel. Daun yang masih muda umumnya memiliki metabolit sekunder lebih sedikit dibandingkan daun tua sehingga lebih mudah digerus. Selain itu, sifatnya masih

meristematis atau aktif membelah sehingga kandungan DNA nya lebih banyak. Selain itu, penggunaan buffer rinso dari 2 ml ke 3 ml mempengaruhi hasil isolasi daun tenggek burung. Konsentrasi detergen sebanyak 3 ml sudah mampu mendegradasi dinding sel daun tenggek burung sehingga dihasilkan pita yang jelas dan tebal.

Pita DNA yang diperoleh pada sampel M11 tipis. Konsentrasi CTAB yang terlalu tinggi pada sampel M11 dapat menyebabkan rantai polimer pada DNA terganggu bahkan terputus menjadi monomer-monomer yang sukar terbaca. Hal ini mengakibatkan DNA terlihat tipis dan *smear*. Beberapa hasil ekstraksi DNA pada elektroforesis terlihat *smear* dan juga sampel DNA sedikit tertinggal pada sumur gel. Prayitno dan Nuryandani (2011) menyatakan pita *smear* pada bagian bawah pita DNA genomik merupakan molekul dengan bobot bervariasi yang berasal dari degradasi DNA.

Isolasi DNA menggunakan sabun sunlight tidak berhasil dilakukan pada keduabelas sampel. Hal ini kemungkinan disebabkan karena konsentrasi sabun yang terlalu rendah yaitu 2 ml. Sehingga tidak mampu mendegradasi dinding sel tumbuhan yang cukup kuat. Selain itu, sabun tidak dapat berikatan dengan magnesium dan kalsium sehingga tidak mampu menginaktivasi enzim nuklease. Hal tersebut menyebabkan DNA tidak tampak pada elektroforesis. Konsentrasi sabun sunlight sebanyak 3 ml belum mampu mendegradasi dinding sel tumbuhan. Hal ini disebabkan karena kandungan jenis surfaktan dalam sabun sunlight memiliki daya cuci lebih ringan dibandingkan detergen. Ini disesuaikan dengan tujuan komersil sabun sunlight sebagai sabun cuci piring yang umumnya lebih ramah lingkungan dibanding detergen sebagai pencuci pakaian. Sehingga untuk isolasi DNA tumbuhan menggunakan sabun sunlight, konsentrasi buffer sebaiknya dinaikkan diatas 3 ml.

Hasil isolasi sampel yang telah berhasil didapatkan pita DNA dapat dilihat pada gambar 5 Hal ini dilakukan untuk membandingkan hasil isolasi serta mempermudah dalam menghitung konsentrasi DNA.



Keterangan :

M : Marker 1 kb ladder

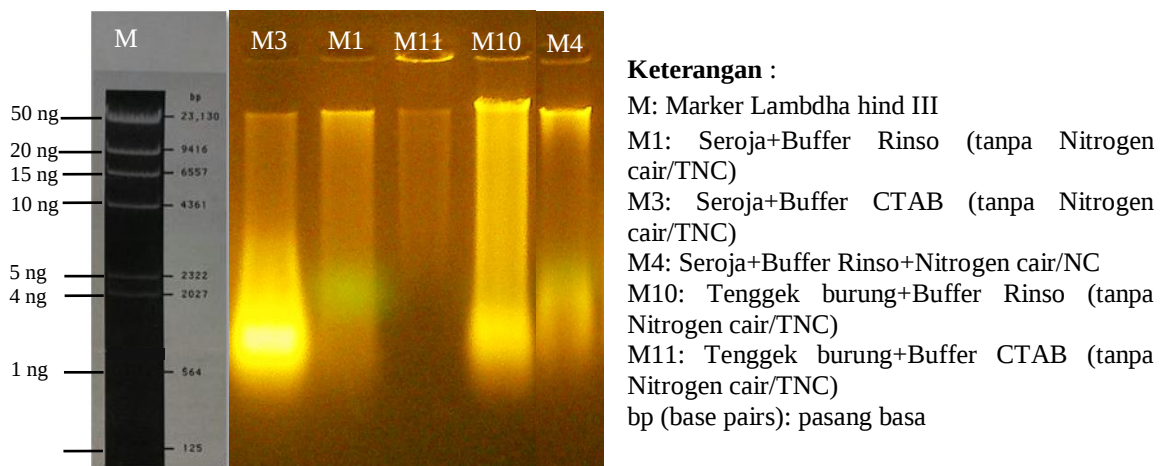
M1 : Seroja+Buffer Rinso (tanpa Nitrogen cair/TNC)

M3 : Seroja+Buffer CTAB (tanpa Nitrogen cair/TNC)

M4 : Seroja+Buffer Rinso+Nitrogen cair/NC

M10 : Tenggek burung+Buffer Rinso (tanpa Nitrogen cair/TNC)

M11 : Tenggek burung+Buffer CTAB (tanpa Nitrogen cair/TNC)



Gambar 5 Elektroforesis. Keseluruhan profil DNA genomik sampel yang berhasil di isolasi.

Gambar 4.6 merupakan gabungan profil DNA genomik sampel seroja dan tenggek burung yang diperoleh melalui elektroforesis. Kelima sampel terdiri dari 3 sampel seroja dan 2 sampel tenggek burung. Isolasi DNA berhasil dilakukan menggunakan metode buffer Rinso (sampel M1, M4 dan M10) dan CTAB (M3 dan M11). Isolasi DNA berhasil dilakukan dengan penggunaan nitrogen cair (M4) maupun tanpa nitrogen cair (M1, M3, M10 dan M11). Keberhasilan proses ekstraksi DNA tanpa menggunakan nitrogen cair telah dilaporkan antara lain pada proses ekstraksi tanaman papaya dan jeruk (Ardiana, 2009), beberapa spesies tanaman obat (Sharma, *et al.*, 2009), kemiri sunan, jambu mete (Syafaruddin dan Santosa, 2011), bakau dan jarak pagar (Kristianto, *et al.*, 2016). Marker Pada tabel 4.2 dapat dilihat rangkuman keberadaan DNA genomik sampel daun seroja dan tenggek burung pada elektroforesis.

Tabel 1 Keberadaan DNA genomik sampel pada elektroforesis

Sampel	Seroja		Tenggek burung	
	1		1	2
M2: Daun seroja 1 gr + Buffer CTAB 1x vol + Nitrogen cair	Smear dan tidak tampak pita DNA		–	–
M3: Daun seroja 1 gr + Buffer CTAB 1x vol (tanpa Nitrogen cair)	Pita DNA tipis		–	–
M4: Daun seroja 1 gr + Buffer detergen Rinso 2 ml + Nitrogen cair	Pita DNA jelas dan tebal		–	–
M1: Daun seroja 1 gr + Buffer detergen Rinso 2 ml (tanpa Nitrogen cair)	Pita DNA jelas dan cukup tebal		–	–
M5: Daun seroja 1 gr + Buffer sabun sunlight 2ml + Nitrogen cair	Pita DNA tidak tampak		–	–
M6: Daun seroja 1 gr + Buffer sabun sunlight 2 ml (tanpa Nitrogen cair)	Pita DNA tidak tampak		–	–
M7: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer CTAB 1x vol + Nitrogen cair	–		Pita DNA tidak tampak, RNA tampak pada bagian bawah well	–
M11: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer CTAB 1x vol (tanpa Nitrogen)	–		Pita DNA tidak tampak	Pita DNA jelas dan tebal

cair)			
M8: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer detergen Rinso 2 ml + Nitrogen cair	–	Pita DNA tidak tampak	Pita DNA jelas namun tipis
M10: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer detergen Rinso 2 ml (tanpa Nitrogen cair)	–	Pita DNA tidak tampak	–
M9: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer sabun sunlight 2 ml + Nitrogen cair	–	Pita DNA tidak tampak, RNA tampak pada bagian bawah well	–
M12: Daun tenggek burung 1 gr + Buffer sabun sunlight 2 ml (tanpa Nitrogen cair)	–	Pita DNA tidak tampak	Pita DNA tidak tampak

Berdasarkan penjelasan diatas, maka dapat disimpulkan bahwa sampel daun seroja dan tenggek burung berhasil diisolasi menggunakan buffer detergen Rinso dan CTAB. Meskipun CTAB merupakan buffer standar dalam proses isolasi DNA, tetapi rinso juga menunjukkan hasil yang baik sesuai hasil elektroforesis. Hal ini berarti, untuk mengurangi pengeluaran biaya, penggunaan alat dan bahan yang sulit diperoleh dalam proses isolasi DNA, penggunaan detergen rinso sebagai buffer lisis sangat direkomendasikan. Selain detergen ini mudah diperoleh dan harganya yang murah, rinso mampu melisis dinding sel dengan baik sehingga hasil elektroforesis menunjukkan pita DNA yang jelas dan tebal.

3. Konsentrasi DNA (ng/µl)

Konsentrasi DNA diperkirakan dengan mengamati pita DNA kemudian mencocokkannya dengan ukuran dan konsentrasi sesuai marker yang digunakan (1 kb ladder) dan Lambda Hind III. Satuan konsentrasi DNA yang digunakan adalah ng/µl. Hasil perhitungan perkiraan konsentrasi DNA dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2 Konsentrasi DNA sampel hasil isolasi

Sampel	Konsentrasi DNA (ng/µl)
M1 : Seroja + Buffer Rinso (tanpa Nitrogen cair)	15 ng/µl
M2 : Seroja + Buffer CTAB + Nitrogen cair	smear
M3 : Seroja + Buffer CTAB (tanpa Nitrogen cair)	5 ng/µl
M4 : Seroja + Buffer Rinso + Nitrogen cair	20 ng/µl
M5 : Seroja + Buffer sunlight + Nitrogen cair	–
M6 : Seroja + Buffer sunlight (tanpa Nitrogen cair)	–
M7 : Tenggek burung + Buffer CTAB + Nitrogen cair	–
M8 : Tenggek burung + Buffer Rinso + Nitrogen cair	–
M9 : Tenggek burung + Buffer sunlight + Nitrogen cair	–
M10: Tenggek burung + Buffer Rinso (tanpa Nitrogen cair)	50 ng/µl
M11: Tenggek burung + Buffer CTAB (tanpa Nitrogen cair)	4 ng/µl
M12: Tenggek burung + Buffer sunlight (tanpa Nitrogen cair)	–

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel M4 dan M10 dengan konsentrasi berturut 20 ng/μl dan 50 ng/μl. Kemudian diikuti oleh sampel M1 konsentrasi 15 ng/μl. Kedua sampel tertinggi diekstraksi menggunakan buffer detergen Rinso cair. Sampel ini dapat dilanjutkan ke analisis PCR jika diperlukan. Marker yang digunakan untuk mengukur konsentrasi DNA pada tabel 4.2 adalah Lambda Hind III.

Berdasarkan alasan tersebut, maka hasil isolasi DNA pada penelitian dapat digunakan dalam rancangan LKPD untuk mengisolasi DNA secara sederhana yang akan diintegrasikan di sekolah untuk jenjang Sekolah Menengah Atas (SMA). Hal ini dapat mengatasi masalah minimnya alat dan bahan yang ada di sekolah, sehingga peserta didik dapat memperoleh pengetahuan dan pengalaman lebih baik mengenai DNA yang menjadi bekal siswa untuk mempelajari genetika lebih lanjut atau modern. Pada kegiatan praktikum isolasi DNA secara sederhana, siswa akan mengamati DNA secara langsung dengan melihat morfologi DNA melalui kenampakan benang-benang/gumpalan DNA pada tabung reaksi. Melalui kegiatan tersebut, siswa secara aktif dapat meningkatkan ketrampilan laboratorium serta pengetahuan inkuiri nya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kualitas DNA (keberadaan DNA) pada sampel daun seroja dan tenggek burung berhasil diisolasi menggunakan buffer detergen Rinso dan CTAB. Kuantitas DNA (konsentrasi DNA) tertinggi terdapat pada sampel daun tenggek burung dengan buffer detergen Rinso TNC sebesar 50 ng/μl. Buffer detergen Rinso lebih tepat digunakan untuk eksperimen isolasi DNA secara sederhana di Sekolah Menengah Atas (SMA) dibandingkan sabun *sunlight*. Hasil penelitian dirancang menjadi LKPD berbasis pendekatan saintifik.

Rekomendasi

Hasil rancangan LKPD dapat di implementasikan ke sekolah sebagai media belajar materi genetika kelas XII. Isolasi DNA menggunakan buffer detergen Rinso dapat dijadikan alternatif untuk mengurangi biaya buffer yang umumnya relatif mahal. Penggunaan buffer detergen sebaiknya lebih dari 2 ml/gr sampel untuk tumbuhan jenis pohon.

DAFTAR PUSTAKA

- Ari Indriana. 2015. Isolasi DNA Bayam (*Amaranthus sp*) dan Ikan Lele (*Clarias sp*) sebagai Kajian Dalam Biologi Molekuler. *Didaktika*. 13(2): 23-30.
- Asem ID, Majumder PB, Imotomba, Laishram. 2015. Genomic DNA extraction from the black scented rice (Chackhao). *Indian journal of plant sciences*. 4(1): 34-37.
- Corebima. 2009. Pendekatan Baru Genetika dari Pendekatan Sejarah ke Pendekatan Konsep. Disajikan pada Seminar Nasional MIPA Universitas Negeri Malang.
- Corkill, G., Rapley, R. 2008. The Manipulation of Nucleic Acids: Basic Tools & Techiques in Molecular Biomethods Handbook Second Edition. Humana Press, NJ,USA.
- Elya Nusantara. 2013. Kajian Miskonsepsi Genetika Yang Ditemukan Pada Bahan Ajar Biologi SMA Dan Perbaikan Kesalahan Konsep Genetika. *Jurnal pendidikan sains*. 1(1): 52-64.
- Fatchiyah, A., Widyarti, S dan Rahayu, S. 2011. Biologi molekuler: prinsip dasar analisis . Erlangga : Jakarta.
- Hikmah. 2013. Keanekaragaman Molecular Durian berdasarkan Fragmen Internal Transcribed Spacers (ITS) DNA Ribosomal melalui Analisis PCR-RFLP. [Skripsi]. Universitas Negeri Semarang.
- Karim, M.S., Nasouddin, S.S, Othman,M., Mohd Adzahan., Hussin, S.R and Khozirah, S. 2011. Consumers' knowledge and perception towards *Melicope ptelefolia* (Daun Tenggek Burung): A preliminary qualitative study. *International Food Research Journal*. 18(4): 1481-1488.
- Kristianto N., Rerenstradika., Habib dan Puji Lestari. 2016. Metode Ekstraksi DNA Tanaman Jarak tanpa Menggunakan Nitrogen Cair. *Jurnal Littri*. 22(4): 159-166.
- Mahat Magandhi. 2015. Tumbuhan Air Berpotensi Obat Koleksi Kebun Raya Bogor. *Warta Kebun Raya*. 13(1) : 30-36.
- Porebski S., Bailey G., and Baum B. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol Bio*. 15(1): 8-15.

- Prayitno E, Nuryandani E. 2011. Optimalisasi ekstraksi DNA jarak pagar (*Jatropha curcas*) melalui pemilihan daun yang sesuai. *Bioteknologi*. 8(1): 24-31.
- Rufa Hera. 2017. Studi Kasus Permasalahan dalam Proses Pembelajaran Konsep Genetika Di SMA Negeri 2 Seulimum Kabupaten Aceh Besar *Jurnal Genta Mulia*. 8(1).
- Sharma K., A.K., Mishra, and R.S. Misra. 2010. A simple and Efficient Method For Extraction of Genomic DNA from Tropical Tuber Crops. *Afr. J. Biotechnology*. 7:1018-1022.
- Switzer., Robert, L. & Garritty, L.F. 1996. *Experimental Biochemistry Theory And Exercise In Fundamental Methods 3 rd edition*, W.H Freeman Custom Publishing.
- Syafaruddin., Randriani dan Santoso. 2011. Efektivitas dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA pada Jambu Mete. *Bulletin RISTRI*. 2(2): 2-9.
- Utami, R., Yuliawati, K dan Syafnir, L. 2015. Pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun sukun. Prosiding penelitian spesia Unisba (pp. 280-286). Bandung.
- Ya Li., Nilamber A., Natalya N and Jian-Xin Yao. 2016. Comparative study of leaf architecture and cuticles of *Nelumbo changchangensis* from the Eocene of Hainan Island and two extant species of *Nelumbo*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 180: 123-137.
- Yulaikah, S., Alfindasari, D. dan Adawiyah. 2015. Integrasi *Scientific Inquiry* Dengan Kompetensi Professional Guru Biologi Pada Pembelajaran Biologi Abad Ke-21. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi.