

THE USE OF BUFFER FOR ISOLATION OF GENOMIC DNA FROM *Sphagnum sp.* and *Stenochlaena palustris* AS HANDOUT IN GENETIC MATERIAL OF SENIOR HIGH SCHOOL CLASS XII

Megawati Angraini, Imam Mahadi, Zulfarina

Email : megawati.angraini@student.unri.ac.id, i_mahadi@yahoo.com, zulfarina@unri.ac.id

Phone Number: +6282171710432

*Biology Education
Teacher Training and Education Faculty
Riau University*

Abstract: *This study aims to determine the right buffer for use in DNA genomic isolation of the *Sphagnum sp.* and *Stenochlaena palustris* ferns and produce handout for class XII Senior high school. This research was conducted at the Genetic Laboratory of the Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Riau in March-June 2019. The parameters of this study were the presence of DNA in the supernatant, DNA band thickness and DNA concentration based on electrophoresis results. Handout design is carried out using 2 stages, analysis and design. The results showed that the *Sphagnum sp.* and *Stenochlaena palustris* ferns successfully isolated using detergent buffer and CTAB both using liquid nitrogen and without liquid nitrogen, which is marked by the appearance of lumps or white fibers in the supernatant layer. While samples using liquid soap were not successful. Therefore, detergent is more appropriate to be used for simple DNA genomic isolation experiments in senior high school. Genomic DNA based on electrophoresis results was obtained in 7 samples from a total of 12 samples, which are indicated by the presence of DNA bands. The highest DNA concentration was found in *Stenochlaena palustris* fern sample with detergent buffer and CTAB and *Sphagnum sp.* sample with CTAB buffer that was 50 ng/ μ l, while the lowest DNA concentration was found in *Stenochlaena palustris* sample with liquid soap buffer which was 15 ng/ μ l. The results of the research obtained will be used as a development of learning genetic material for Class XII senior High School in KD 3.3 and 4.3. The results of the design of learning tools in the form of syllabus, lesson plans and handout.*

Key Words: *DNA genomic isolation, Buffer, Handout.*

**PENGGUNAAN *BUFFER* UNTUK
ISOLASI DNA GENOM *Sphagnum* sp. dan *Stenochlaena palustris*
SEBAGAI RANCANGAN HANDOUT PADA
MATERI GENETIKA SMA KELAS XII**

Megawati Angraini, Imam Mahadi, Zulfarina

Email : megawati.angraini@student.unri.ac.id, i_mahadi@yahoo.com, zulfarina@unri.ac.id
Nomor HP: +6282171710432

Program Studi Pendidikan Biologi
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Riau

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *buffer* yang tepat untuk digunakan dalam isolasi DNA genom tumbuhan lumut *Sphagnum* sp. dan tumbuhan paku *Stenochlaena palustris*.serta menghasilkan *handout* untuk kelas XII SMA. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau pada bulan Maret-Juni 2019. Parameter penelitian ini adalah keberadaan DNA pada supernatan, ketebalan pita DNA serta konsentrasi DNA berdasarkan hasil elektroforesis. Perancangan *handout* dilakukan dengan menggunakan 2 tahap yaitu analisis dan desain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan lumut *Sphagnum* sp. dan tumbuhan paku *Stenochlaena palustris* berhasil diisolasi menggunakan *buffer* deterjen dan CTAB baik menggunakan nitrogen cair maupun tanpa nitrogen cair, yang ditandai dengan terlihatnya gumpalan atau benang-benang putih pada lapisan supernatan. Sementara sampel yang menggunakan sabun cair tidak berhasil dilakukan. Oleh karena itu, deterjen lebih tepat digunakan untuk eksperimen isolasi DNA genom secara sederhana di SMA. DNA genom berdasarkan hasil elektroforesis berhasil diperoleh pada 7 sampel dari total 12 sampel, yang ditunjukkan oleh adanya pita (*band*) DNA. Konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel tumbuhan paku dengan *buffer* deterjen dan CTAB serta sampel tumbuhan lumut dengan *buffer* CTAB yaitu sebesar 50 ng/μl, sedangkan konsentrasi DNA terendah terdapat pada sampel tumbuhan paku dengan *buffer* sabun cair yaitu 15 ng/μl. Hasil penelitian yang didapat akan digunakan sebagai pengembangan pembelajaran materi genetika Kelas XII SMA pada KD 3.3 dan 4.3. Adapun hasil rancangan perangkat pembelajaran yaitu berupa Silabus, RPP dan *handout*.

Kata Kunci: Isolasi DNA Genom, *Buffer*, *Handout*

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang pesat telah memberikan andil yang cukup besar dalam kemajuan berbagai cabang ilmu biologi. Untuk mengikuti perkembangan ilmu biologi yang pesat tersebut, dibutuhkan sumber daya manusia (SDM) berkemampuan dan berkualitas. Kenyataan menunjukkan bahwa jumlah SDM yang mampu dan berkualitas dalam penguasaan teknik biologi molekuler masih sedikit (Betty, *et al.*, 2017).

Evy Yulianti (2016) menyatakan bahwa guru sebagai salah satu komponen utama bangsa memiliki peran penting dalam menghasilkan SDM yang berkemampuan. Tenaga pendidik (guru) memiliki kewajiban mengatasi masalah-masalah yang dihadapi dalam proses pembelajaran dan senantiasa mengembangkan kompetensi secara berkelanjutan sejalan dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi sehingga dapat melaksanakan kegiatan pembelajaran yang bermutu.

Menurut Topik (2007), isu-isu terbaru tentang perkembangan biologi seperti biologi molekuler tidak semuanya dapat diakomodir khususnya oleh kalangan guru, padahal informasi tentang biologi molekuler sangat dibutuhkan oleh guru bidang studi biologi maupun mahasiswa calon guru biologi untuk memperluas dan memperkaya wawasan sebagai bekal mengajar di kelas. Hal ini disebabkan karena keterbatasan akses, minimnya fasilitas sekolah dan mahalnya bahan-bahan yang diperlukan untuk melakukan praktikum biologi molekuler contohnya seperti isolasi DNA.

Fakta menunjukkan bahwa guru-guru biologi di SMA kota Pekanbaru juga belum melakukan suatu praktikum isolasi DNA di sekolah kepada peserta didik, padahal pada beberapa buku standar Kurikulum 2013 yang digunakan di sekolah sudah memuat kegiatan praktikum isolasi DNA untuk siswa kelas XII SMA pada pembelajaran materi genetika.

Kegiatan eksperimen isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan buffer pada tahap ekstraksinya. Buffer yang umum dan biasanya digunakan pada eksperimen isolasi DNA adalah CTAB dan KIT, namun CTAB dan KIT memiliki harga yang mahal dan ketersediaannya relatif jarang sehingga harus dipesan terlebih dahulu. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain dalam melakukan kegiatan eksperimen isolasi DNA. Alternatif yang dapat dilakukan oleh guru biologi maupun calon guru biologi adalah dengan mencari buffer yang lebih ekonomis dibanding buffer umum yang biasanya digunakan agar kegiatan eksperimen isolasi DNA tetap dapat dilakukan.

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan, maka penulis melakukan penelitian isolasi DNA genom menggunakan buffer deterjen, sabun cair dan CTAB. CTAB merupakan metode yang umum digunakan dalam ekstraksi DNA tanaman yang banyak mengandung polisakarida dan senyawa polifenol sedangkan deterjen dan sabun cair merupakan buffer sederhana yang diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti CTAB dalam proses isolasi DNA. Melalui isolasi DNA dengan buffer tersebut, maka dapat diketahui buffer manakah yang paling tepat untuk digunakan sebagai bahan praktikum pengamatan DNA di sekolah.

Tumbuhan digunakan dalam penelitian ini ialah lumut *Sphagnum* sp. dan paku *Stenochlaena palustris* yang merupakan tumbuhan tingkat rendah. *Sphagnum* sp. dan *Stenochlaena palustris* merupakan spesies yang paling banyak ditemukan di Pulau Sumatera khususnya di Riau. Sebelumnya telah dilakukan penelitian isolasi DNA oleh Rapika Sirait (2018) menggunakan tumbuhan lokal Riau yaitu seroja dan tenggek burung, dimana tumbuhan ini merupakan tumbuhan tingkat tinggi dari Divisi

Spermatophyta. Penelitian ini menunjukkan hasil yang baik berdasarkan konsentrasi DNA yang diperoleh sebesar 50 ng/μl dari tumbuhan tenggek burung. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian isolasi DNA dari tumbuhan lumut dan paku untuk membuktikan apakah DNA tumbuhan tingkat rendah juga dapat diperoleh melalui teknik isolasi. Hasil penelitian ini kemudian akan diintegrasikan sebagai sumber belajar atau bahan ajar berupa *handout* untuk jenjang SMA kelas XII.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau pada Maret 2019. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif laboratorik dengan jumlah sampel sebanyak 12 buah. Buffer yang digunakan ialah CTAB (komposisi: 1M Tris HCl pH 8; 0,5M EDTA pH 8; 5M NaCl; 0,2% 14M β-ME; 2% CTAB, Aquabidestilata), sabun cair merk Sunlight, buffer deterjen cair merk Rinso. Parameter penelitian ini adalah keberadaan DNA pada supernatan, serta hasil elektroforesis (kualitas dan kuantitas DNA). Berikut ini tabel rancangan penelitiannya.

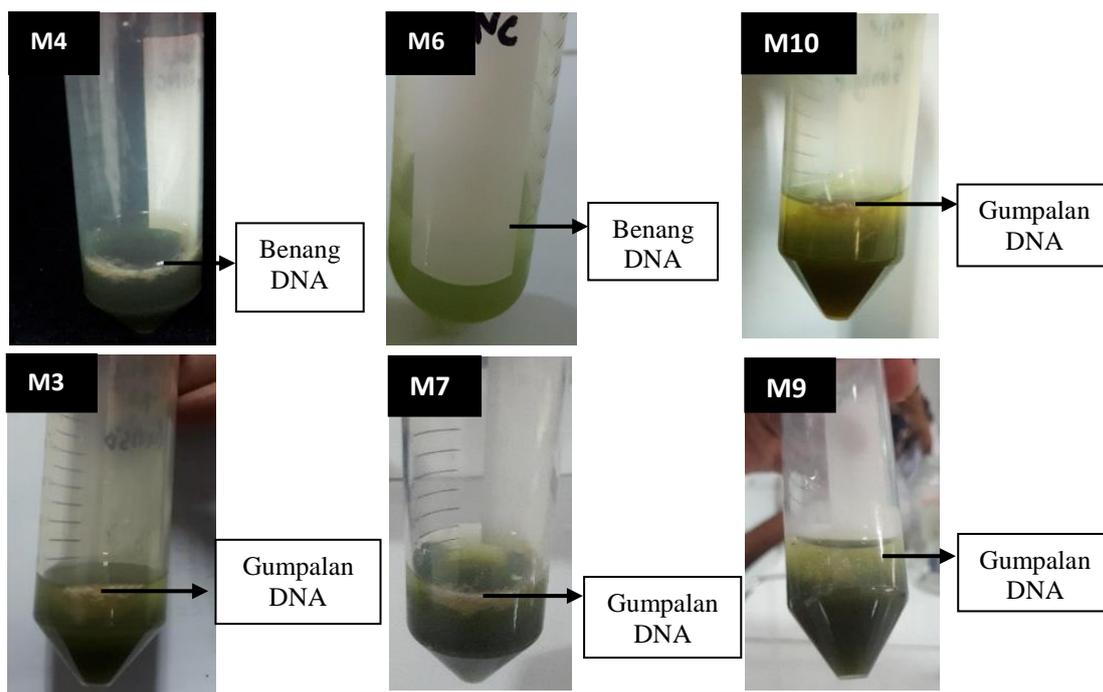
Tabel 1. Perlakuan Isolasi DNA genomik

	Sampel	Buffer	N ₂ Cair
M1	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	CTAB 1x vol	-
M2	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	Sabun cair 3 ml	-
M3	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	Deterjen 3 ml	-
M4	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	CTAB 1x vol	-
M5	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	Sabun cair 3 ml	-
M6	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	Deterjen 3 ml	-
M7	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	CTAB 1x vol	√
M8	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	Sabun cair 3 ml	√
M9	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> 1 gr	Deterjen 3 ml	√
M0	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	CTAB 1x vol	√
M1	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	Sabun cair 3 ml	√
M12	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. 1 gr	Deterjen 3 ml	√

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan DNA hasil ekstraksi

Hasil pengamatan terhadap keberadaan DNA dilihat dari benang-benang putih pada lapisan atas atau supernatan setelah pemberian isopropanol dingin. Dari 12 sampel yang diuji, keberadaan DNA berdasarkan ketebalan supernatan dapat dilihat pada sampel lumut dengan *buffer* CTAB (M4 dan M10), lumut *buffer* deterjen (M6), kemudian sampel tumbuhan paku dengan *buffer* CTAB (M7) dan paku dengan *buffer* deterjen (M3 dan M9).

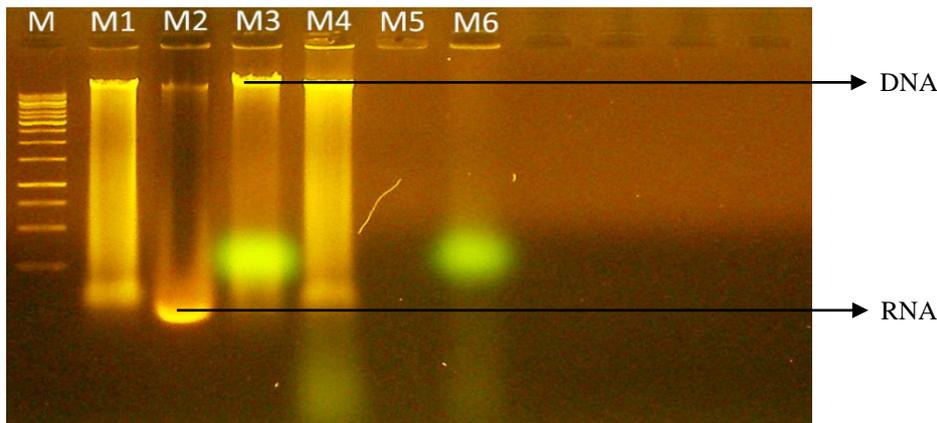


Gambar 1. Keberadaan DNA Hasil Ekstraksi

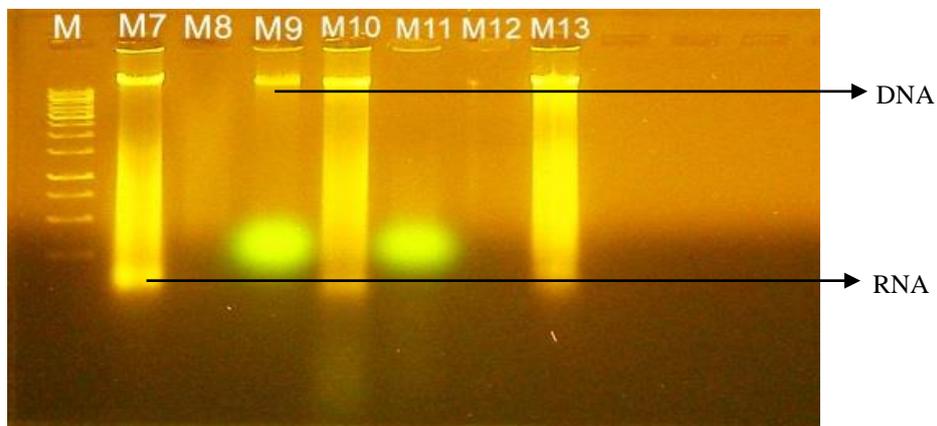
Benang-benang putih atau gumpalan DNA yang terkumpul di atas terbentuk setelah ditambahkan isopropanol dingin. Isopropanol tersebut mengendapkan dan menggumpalkan DNA serta memisahkannya dari larutan sehingga akan terbentuk gumpalan-gumpalan atau benang-benang halus berwarna putih pada supernatan. Penambahan isopropanol dingin berfungsi sebagai fiksatif, yaitu menarik air atau mengkondisikan dehidrasi yang menyebabkan terbentuknya DNA yang tidak larut atau mengendap. Pengendapan ini terjadi berdasarkan fenomena penurunan kelarutan asam nukleat di dalam air. Molekul air yang polar mengelilingi molekul DNA pada larutan akuosa dimana muatan positif dari air berikatan kuat dengan muatan negatif gugus fosfat DNA. Ikatan ini menyebabkan DNA larut dalam air, sementara isopropanol lebih tidak polar bila dibandingkan dengan air sehingga molekul isopropanol tidak dapat berikatan dengan gugus polar asam nukleat sekuat air. Hal ini menyebabkan isopropanol tidak dapat melarutkan asam nukleat. Isopropanol yang digunakan dalam keadaan dingin berfungsi untuk menyempurnakan presipitasi, karena temperatur yang rendah akan menurunkan aktivitas molekul air yang dapat menyebabkan pengendapan DNA lebih efektif (Ganies, *et al.*, 2013)

Benang-benang putih atau gumpalan DNA yang terlihat pada perlakuan dengan deterjen yaitu pada sampel paku tanpa nitrogen cair (M3), sampel lumut tanpa nitrogen cair (M6) dan sampel paku dengan nitrogen cair (M9) dikarenakan deterjen dapat melisis dinding sel pada saat penggerusan serta mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA. Deterjen menginaktivasi enzim nuklease dengan cara mengikat ion magnesium dan kalsium yang dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNase. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Bahl and Pfenninger, 1996; Evy Yulianti, 2006) yang menunjukkan bahwa DNA dengan berat molekul yang tinggi dapat dihasilkan dari beberapa jaringan menggunakan deterjen dari berbagai merk.

Keberadaan DNA hasil Elektroforesis



Gambar 2. Profil DNA genomik hasil elektroforesis lumut *Sphagnum* sp. (M1,M2,M3) dan paku *Stenochlaena palustris* (M4, M5, M6) tanpa penggunaan nitrogen cair.



Gambar 4.4 Profil DNA genomik hasil elektroforesis lumut *Sphagnum* sp. (M7,M8,M9) dan paku *Stenochlaena palustris* (M10,M11,M12) dengan penggunaan nitrogen cair.

Berdasarkan hasil elektroforesis (Gambar 4.3), isolasi DNA tumbuhan paku menggunakan *buffer* CTAB dan deterjen tanpa nitrogen cair menunjukkan hasil yang cukup baik yaitu pada sampel paku CTAB (M1) dan sampel paku deterjen (M3), dimana terlihat pita yang cukup tebal dan jelas. Keberhasilan deterjen dalam mengisolasi tumbuhan paku (M3) dikarenakan deterjen dapat menyebabkan rusaknya membran sel dengan ikatan yang dibentuk melalui sisi hidrofobik deterjen dengan protein dan lemak pada membran kemudian membentuk senyawa “lipid protein-deterjen kompleks”. Senyawa tersebut dapat terbentuk karena protein dan lipid memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik, demikian juga dengan deterjen, sehingga dapat membentuk suatu ikatan kimia (Corkill, *et al.*, 2008).

Isolasi DNA sampel tumbuhan paku menggunakan *buffer* sabun dengan penambahan nitrogen cair (M8) tidak berhasil dilakukan. Kemungkinan penyebabnya ialah pemipetan sampel yang tidak sempurna, gerakan yang terlalu kuat pada saat membolak-balikkan tabung atau dapat pula karena kurangnya ketelitian saat memasukkan sampel ke dalam sumur (*well*) perangkat elektroforesis. Sedangkan sampel tumbuhan paku dengan *buffer* sabun tanpa menggunakan nitrogen cair (M2) berhasil dilakukan namun menunjukkan hasil yang kurang baik, dimana terlihat pita

(*band*) yang tidak utuh. Hal ini dapat disebabkan karena penggerusan sampel yang terlalu kuat sehingga saat isi sel keluar (lisis), DNA menjadi rusak atau terpotong.

Hasil elektroforesis sampel tumbuhan paku *buffer* CTAB (M1), paku *buffer* sabun (M2) dan paku *buffer* deterjen (M3) juga terlihat *smear*. *Smear* atau pendaran yang terlihat pada bagian bawah sumur gel dan berwarna lebih terang pada sampel M1, M2, M3 tersebut menunjukkan adanya RNA. RNA yang terlihat pada bagian bawah sumur gel tersebut disebabkan karena molekul RNA lebih ringan daripada DNA sehingga RNA bermigrasi lebih cepat dan akan terlihat sebagai pendaran pada bagian bawah sumur. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rejeki (2013); Dita (2014) dan Arsyam (2016), kontaminasi RNA dapat dihilangkan dengan pemberian RNase.

Hasil elektroforesis isolasi DNA pada sampel tumbuhan paku menggunakan *buffer* CTAB (M7) menunjukkan hasil yang baik, dimana terlihat pita yang jelas, utuh dan tebal, sama halnya seperti pada sampel tumbuhan paku yang menggunakan deterjen (M9). Keberhasilan penggunaan deterjen dalam mengisolasi DNA tumbuhan paku ini dikarenakan deterjen memiliki komposisi yang mirip seperti CTAB, dimana pada deterjen terdapat *Alkyl Benzene Sulfonat* (ABS) yang menggantikan CTAB, kemudian disodium EDTA yang menggantikan EDTA dan *sodium chloride* seperti NaCl yang terdapat pada CTAB. Oleh karena adanya komposisi yang mirip dengan CTAB itu, maka deterjen juga dapat menginaktivasi enzim DNase yang akan mendenaturasi DNA yang diisolasi. Hal ini sesuai dengan keberhasilan penelitian yang dilakukan oleh Evy Yulianti (2006) yang menggunakan deterjen sebagai penghambat DNase dalam mengisolasi DNA. Oleh karena itu, senyawa deterjen dan CTAB sama-sama dapat melisis dinding sel, mendenaturasi protein serta menghambat aktivitas enzim nuklease.

Tumbuhan lumut yang diisolasi menggunakan *buffer* sabun cair tanpa penambahan nitrogen cair (M5) ataupun dengan nitrogen cair (M11) tidak berhasil dilakukan, karena tidak terlihat adanya DNA pada hasil elektroforesis dan tidak terlihat adanya benang-benang putih pada ekstraksi setelah penambahan isopropanol dingin. Hal ini disebabkan karena sabun cair memiliki komposisi yang lebih sederhana dan konsentrasi bahan aktif berupa surfaktan dalam jumlah lebih sedikit (<20%) dibandingkan dengan deterjen. Sabun cair yang tersebar di pasaran dan digunakan dalam isolasi ini mengandung bahan aktif seperti LAS Na, SLES, SLS yang merupakan surfaktan anionik golongan deterjen lunak/lemah dengan rantai karbon yang lurus dan mudah diurai oleh mikroorganisme dan air. Kemudian juga terdapat kandungan CAPB (*Cocamidopropyl betaine*) pada sabun yang merupakan surfaktan amfoterik yang jauh lebih aman karena memiliki tingkat iritasi yang sangat kecil, sehingga kebanyakan CAPB juga dipergunakan dalam produk perawatan wajah (*skincare*) dan kosmetik. Bahan-bahan inilah yang menyebabkan daya cuci sabun tidak sebaik deterjen. Sebaliknya deterjen mengandung bahan aktif ABS (*Alkyl Benzene Sulfonat*) dengan konsentrasi cukup tinggi (>20%). ABS merupakan surfaktan anionik golongan deterjen kuat dengan rantai bercabang pada atom karbon sehingga sulit dirusak oleh mikroorganisme. Inilah yang menyebabkan daya cuci deterjen lebih kuat daripada sabun cair. Hal ini didasarkan pada tujuan penggunaannya, dimana deterjen digunakan untuk mencuci pakaian, sedangkan sabun digunakan untuk mencuci piring.

Keberadaan DNA berdasarkan tingkat ketebalan pita DNA genomik pada seluruh sampel dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 2. Ketebalan pita DNA genomik lumut *Sphagnum* sp. dan paku *Stenochlaena palustris* hasil elektroforesis

Sampel	Perlakuan	Karakteristik pita (<i>band</i>)
M	Marker 1 kb <i>ladder</i>	
M1	Paku <i>S. palustris</i> + CTAB	cukup tebal dan <i>smear</i>
M2	Paku <i>S. palustris</i> + Sabun	tipis
M3	Paku <i>S. palustris</i> + Deterjen	tebal
M4	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + CTAB	cukup tebal dan <i>smear</i>
M5	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + Sabun	tidak tampak
M6	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + Deterjen	tidak tampak
M7	Paku <i>S. palustris</i> + CTAB + N2 cair	tebal dan jelas
M8	Paku <i>S. palustris</i> + Sabun + N2 cair	tidak tampak
M9	Paku <i>S. palustris</i> + Deterjen+ N2 cair	tebal dan jelas
M10	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + CTAB+ N2 cair	tebal namun <i>smear</i>
M11	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + Sabun + N2 cair	tidak tampak
M12	Lumut <i>Sphagnum sp.</i> + Deterjen +N2 cair	tidak tampak

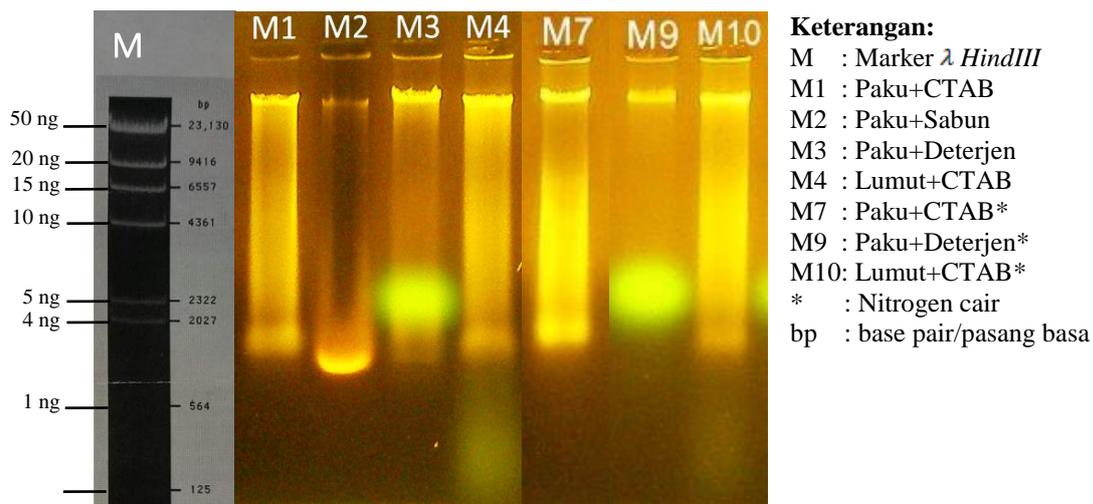
Berdasarkan tabel diatas, dapat disimpulkan bahwa hasil elektroforesis telah membuktikan keberhasilan ekstraksi DNA tumbuhan lumut dan tumbuhan paku menggunakan *buffer* deterjen dan CTAB. Oleh karena itu maka isolasi DNA dapat dilakukan menggunakan metode yang lebih mudah, murah, dan cepat menggunakan deterjen komersial sebagai pengganti CTAB yang harganya relatif mahal, sehingga kegiatan eksperimen isolasi DNA dapat diterapkan sebagai materi praktikum kepada peserta didik di kelas.

Isolasi DNA sampel yang telah berhasil didapatkan pita DNA saat elektroforesis berjumlah 7 sampel dari total 12 sampel. Keberhasilan yang lebih banyak terdapat pada sampel tumbuhan paku dimana dari ketujuh sampel tersebut, 5 diantaranya ialah sampel tumbuhan paku (M1,M2,M3,M7,M9) dan 2 lainnya sampel tumbuhan lumut (M4 dan M10).

Isolasi DNA berhasil dilakukan menggunakan metode *buffer* deterjen (M3 dan M9), sabun cair (M2) serta *buffer* CTAB (M1,M4,M7,M10). Berdasarkan ke-7 sampel tersebut, isolasi DNA berhasil dilakukan baik dengan penggunaan nitrogen cair (M7,M9,M10) maupun tanpa nitrogen cair (M1,M2,M3,M4). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan nitrogen cair tidak berpengaruh nyata terhadap hasil isolasi, karena DNA tetap dapat terlihat baik pada saat ekstraksi maupun elektroforesis, sehingga penggunaan nitrogen cair tidak mutlak dilakukan. Apalagi nitrogen cair juga jarang ditemukan karena harganya mahal serta membutuhkan ruang berpendingin dan tanki khusus untuk penyimpanan.

Konsentrasi DNA

Uji kuantitatif yaitu memperkirakan konsentrasi DNA pada sampel yang diuji dengan melihat pita DNA dan mencocokkannya dengan marker. Pita DNA yang jelas dan tebal memiliki konsentrasi DNA lebih tinggi dibandingkan dengan pita yang tipis dan *smear*. Pada elektroforesis marker yang digunakan adalah 1 kb *ladder*. Namun untuk memperoleh konsentrasi DNA yang lebih akurat digunakan marker λ *Hind III* . Marker ini memiliki delapan fragmen DNA dengan kisaran 125 pb hingga 23.130 pb.



Gambar 4. Konsentrasi DNA genomik lumut *Sphagnum* sp. dan paku *Stenochlaena palustris* yang berhasil diisolasi.

Jumlah konsentrasi DNA pada sampel yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Perkiraan konsentrasi DNA genomik hasil isolasi

Sampel	Perlakuan	Konsentrasi DNA (ng/ μ l)
M	Marker 1 kb ladder	
M1	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + CTAB	20
M2	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + Sabun cair	15
M3	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + Deterjen	50
M4	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + CTAB	50
M5	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + Sabun cair	-
M6	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + Deterjen	-
M7	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + CTAB + N ₂	50
M8	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + Sabun cair + N ₂	-
M9	Paku <i>Stenochlaena palustris</i> + Deterjen + N ₂	50
M10	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + CTAB + N ₂	50
M11	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + Sabun cair + N ₂	-
M12	Lumut <i>Sphagnum</i> sp. + Deterjen + N ₂	-

Tabel 3 menunjukkan bahwa secara keseluruhan konsentrasi DNA yang diperoleh sudah tinggi. Konsentrasi tertinggi yaitu 50 ng/ μ l terdapat pada 5 sampel yaitu sampel M3, M4, M7, M9, M10. Dari kelima sampel dengan konsentrasi DNA tertinggi tersebut, 3 sampel menggunakan CTAB dan 2 sampel lainnya menggunakan buffer deterjen pada ekstraksinya. Hal ini membuktikan bahwa deterjen memiliki kemampuan yang sama baik dengan CTAB dalam mendegradasi dinding sel tumbuhan sehingga diperoleh DNA dengan konsentrasi tinggi. Konsentrasi DNA terendah terdapat pada sampel tumbuhan paku dengan buffer sabun cair (M2) yaitu 15 ng/ μ l. Hal ini menunjukkan bahwa sabun cair tidak dapat mengisolasi DNA sebaik deterjen.

Potensi Hasil Penelitian sebagai Handout

Berdasarkan hasil penelitian isolasi DNA, dirancang *handout* menggunakan dua tahapan yaitu *analyse* dan *design*.

Analisis

Tahap pertama dalam pengembangan *handout* adalah dilakukan analisis kurikulum yang dikeluarkan Permendikbud No.24 Tahun 2016. Tujuan menelaah kurikulum ini adalah untuk dapat mengembangkan silabus, RPP, dan materi yang cocok dengan hasil penelitian dan selanjutnya dibuat sebagai bahan ajar biologi bagi peserta didik tingkat SMA yang disesuaikan dengan KD (Kompetensi Dasar), sehingga selanjutnya dapat ditentukan sub materi yang sesuai dengan data hasil penelitian.

Berdasarkan hasil analisis, maka KD 3.3 dan KD 4.3 dengan sub materi yaitu Gen, DNA dan kromosom dipilih untuk dijadikan bahan ajar *handout* mengenai teknik isolasi secara sederhana. Setelah peserta didik belajar sub materi Gen, DNA dan kromosom kemudian siswa dapat melakukan pengamatan DNA melalui menggunakan *handout* yang dirancang untuk kegiatan praktikum sehingga kompetensi psikomotornya dapat dikembangkan.

Desain

Tahap selanjutnya adalah merancang *handout* yang dilengkapi dengan kegiatan eksperimen isolasi DNA genom secara sederhana. *Handout* dengan kegiatan praktikum ini akan menambah keterampilan siswa serta menjadi inovasi dalam pembelajaran, sehingga diharapkan dapat mengubah persepsi siswa terhadap pembelajaran genetika yang membosankan. Berdasarkan hasil spesifikasi tujuan pembelajaran, rancangan awal yang dibuat adalah perangkat pendukung yaitu silabus dan RPP. Silabus dirancang sesuai dengan Permendikbud No.24 tahun 2016. RPP dirancang sesuai dengan tuntutan Kurikulum 2013 revisi 2017 menggunakan pendekatan saintifik dengan model inkuiri terbimbing.

SIMPULAN DAN REKOMENDASI

Simpulan

1. Tumbuhan lumut *Sphagnum* sp. dan tumbuhan paku *Stenochlaena palustris* berhasil diisolasi menggunakan *buffer* CTAB dan deterjen baik menggunakan nitrogen cair maupun tanpa nitrogen cair, yang ditandai dengan terlihatnya gumpalan atau benang-benang putih pada lapisan supernatan. Sementara sampel yang menggunakan sabun cair tidak berhasil dilakukan. Oleh karena itu, deterjen lebih tepat digunakan untuk eksperimen isolasi DNA secara sederhana di SMA.
2. Kuantitas DNA (konsentrasi DNA) tertinggi terdapat pada sampel tumbuhan paku dengan *buffer* deterjen dan CTAB serta sampel tumbuhan lumut dengan *buffer*

CTAB yaitu sebesar 50 ng/μl, sedangkan konsentrasi DNA terendah terdapat pada sampel tumbuhan paku dengan buffer sabun cair yaitu 15 ng/μl.

3. Isolasi DNA berdasarkan hasil elektroforesis berhasil diperoleh pada 7 sampel dari total 12 sampel, yang ditunjukkan oleh adanya pita (*band*) DNA. Oleh karena itu, penelitian dapat dijadikan sebagai sumber perancangan bahan ajar berupa *handout*.

Rekomendasi

1. Hasil rancangan *handout* dapat di implementasikan di sekolah sebagai sumber belajar materi genetika kelas XII SMA.
2. Isolasi DNA menggunakan buffer deterjen dapat dijadikan alternatif untuk mengurangi biaya pembelian *buffer* CTAB yang mahal.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyam Mawardi. 2016. Uji Efektivitas Metode Isolasi DNA Genom Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Asal Kabupaten Jayawijaya. *Jurnal Biologi Papua* 8 (1): 7–12.
- Bahl and M. Pfenninger. 1996. A Rapid Method Of DNA Isolation Using Laundry Detergent. *Nucleic Acids Research*. 24(7): 1587–1588. Oxford University Press.
- Betty Nurhayati, Sri Darmawati. 2017. *Biologi Sel dan Molekuler*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI.
- Corkill, G., Rapley, R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acids: Basic Tools & Techniques in Molecular Biomethods Handbook Second Edition*. Ed: Walker, J.M., Rapley, R. Humana Press, NJ. USA.
- Dita Deanesia, Dewi, I.R., Herman. 2014. Isolasi DNA Tanaman Padi (*Oryza Sativa* L.) Asal Kecamatan Bantan, Bengkalis – Riau. *Jom FMIPA* 1 (2).
- Evy Yulianti. 2006. Pengembangan Teknik Isolasi DNA Tumbuhan Menggunakan Deterjen Komersial. *Seminar Nasional MIPA*.
- Ganies Riza Aristya, Ahdiay Agriansyah, Budi Setiadi Daryono. 2013. Deteksi dan Skrining Pewarisan Sifat Ketahanan Penyakit Powdery Mildew pada Generasi Backcross Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.) Var Tacapa.
- Rapika Sirait. 2019. Isolasi DNA Tumbuhan Lokal Melayu Riau sebagai rancangan LKPD Berbasis Pendekatan Saintifik pada Materi Genetik SMA Kelas XII. Skripsi. Universitas Riau. Pekanbaru.

Rejeki, S.F., Pujiyanto, S. 2013. Optimasi Isolasi DNA Cabai (*Capsicum annuum* L.) berdasar Perbedaan Kualitas dan Kuantitas Daun serta Teknik Penggerusan. *Bioma*. 156 (1): 14-19.

Topik Hidayat. 2007. Kursus Singkat Isolasi dan Amplifikasi DNA untuk Guru-guru SMA. UPI. Bandung