

ISOLASI DNA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.) ASAL KECAMATAN BANTAN, BENGKALIS – RIAU.

Dita Deanesia, Dewi Indriyani Roslim, Herman

Mahasiswa Program S1 Biologi, FMIPA-UR
Bidang Genetika Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
ditariftya018@yahoo.co.id

ABSTRACT

Excess of Fe in costal land in Riau Province is potential to poison the roots of plants. However, the plants have their own mechanism to overcome the Fe overload. This study was aimed to isolate the total DNA of rice plants among three local rice genotypes from Riau which are commonly planted in costal land in Bengkalis, Riau, with Fe overload resistant swamp rice variety (Mahsuri) and Fe overload sensitive rice variety (IR64). The experiment was conducted in the Laboratory of Genetics, FMIPA UR, from January to May 2014. Research methods consisted of isolation of DNA and electrophoresis. In this study isolation of DNA from five rice varieties was successfully done. Among those DNA, concentration of total DNA which were obtained from IR64 and Amat Candu were very high.

Keywords : Bengkalis, DNA, Fe, costal land, *Oryza sativa*.

ABSTRAK

Kelebihan Fe pada lahan pasang surut di provinsi Riau akan berpotensi meracuni tanaman padi. Akan tetapi tanaman memiliki mekanisme tersendiri untuk mengatasi kelebihan Fe tersebut. Penelitian ini bertujuan mengisolasi DNA total tanaman pada tiga padi lokal Riau yang umum ditanam pada lahan pasang surut Bengkalis dengan varietas padi rawa unggul tahan cekaman kelebihan Fe (Mahsuri) dan padi unggul tidak tahan cekaman kelebihan Fe (IR64). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika FMIPA UR Januari-Mei 2014. Metode penelitian meliputi isolasi DNA dan elektroforesis. Penelitian telah mendapatkan DNA total pada lima varietas padi yang diteliti. DNA total yang diperoleh pada IR64 dan Amat Candu utuh dan memiliki konsentrasi sangat tinggi. Pada Mahsuri, Korea dan Sadani DNA yang diperoleh juga utuh tetapi konsentrasinya cukup tinggi.

Kata kunci : Bengkalis, DNA, Fe, *Oryza sativa*, lahan pasang surut

PENDAHULUAN

Padi merupakan komponen utama dalam sistem ketahanan pangan nasional. Rata-rata peningkatan produksi padi nasional beberapa tahun terakhir masih rendah, yaitu 2,2 – 2,3 persen per tahun. Berdasarkan angka ramalan III bulan November 2010, produksi padi nasional tahun 2010 meningkat hingga 2,5 persen dan diprediksi mencapai 65,9 juta ton Gabah Kering Giling (GKG) atau setara dengan beras sebanyak 36,9 juta ton (Suswono, 2010). Berdasarkan angka tetap tahun 2009 produktivitas padi nasional sebesar 4,99 t/ha GKG (BPS Nasional, 2010). Padahal dengan laju pertumbuhan penduduk yang mencapai 1,49% dan laju konsumsi beras nasional 1,34% per tahun, rata-rata produktivitas padi nasional seharusnya minimal sebesar 6,0 t/ha (Makarim & Suhartatik, 2006; Suswono, 2010).

Lahan pasang surut adalah lahan yang kadar airnya dipengaruhi oleh pasang surutnya air laut atau sungai. Luas lahan pasang surut di Provinsi Riau tidak kurang dari 900,000 ha dan tersebar merata di beberapa Kabupaten antara lain; Bengkalis, Pelalawan, Indragiri Hulu, Siak Sri Indrapura, dan Indragiri Hilir. Sekitar 267.000 ha terdapat di Kabupaten Indragiri Hilir. Fakta di lapangan menunjukkan bahwa lahan tersebut belum dimanfaatkan secara optimal. Keadaan lahan pasang surut pada umumnya mempunyai keragaman biofisik yang sangat tinggi. Oleh karena itu, penggunaannya harus disesuaikan pada lahan atau tipologinya (BPS Riau, 1992).

Kabupaten Bengkalis merupakan salah satu Kabupaten di Provinsi Riau yang terletak di pesisir timur Pulau

Sumatera, berbatasan dengan Selat Malaka di sebelah utara dan timur, Kabupaten Siak dan Kabupaten Kepulauan Meranti di sebelah selatan, Kabupaten Rokan Hilir, Kabupaten Rokan Hulu dan Kota Dumai di sebelah barat. Kabupaten Bengkalis terdiri dari dua kecamatan, yaitu Kecamatan Bengkalis dan Kecamatan Bantan. Kecamatan Bantan memiliki luas wilayah 424 km² dan terdiri dari 9 desa. Empat desa diantaranya berada di daerah pesisir, yaitu Jangkang, Bantan Air, Bantan Tengah, dan Muntai. Sebagian besar penduduknya bermata pencaharian sebagai petani (BPS Riau, 2013).

Pemanfaatan lahan pasang surut di Bengkalis salah satunya dengan membuka sawah bukaan baru menimbulkan permasalahan baru, yaitu adanya kandungan Fe yang tinggi dan dapat menyebabkan terjadinya keracunan ion Fe di dalam jaringan tanaman. Besi (Fe) adalah mikronutrien penting untuk tanaman, mengambil bagian dalam proses redoks protein, penting untuk fotosintesis dan respirasi. Ion Fe yang tersedia dalam jumlah banyak dan konsentrasi berlebih di dalam jaringan tanaman dapat meracuni tanaman (Guerinot & Yi 1994).

Tanaman memiliki mekanisme untuk mempertahankan homeostatis Fe di dalam sel jaringannya. Mekanisme tersebut melibatkan protein ferritin. Genotipe atau varietas padi yang tahan cekaman kelebihan Fe akan mengekspresikan protein ferritin dalam jumlah lebih banyak dibandingkan genotipe atau varietas padi yang tidak tahan cekaman kelebihan Fe.

Tanaman memiliki mekanisme untuk mempertahankan homeostatis Fe di dalam sel jaringannya. Mekanisme

tersebut melibatkan protein ferritin. Genotipe atau varietas padi yang tahan cekaman kelebihan Fe akan mengekspresikan protein ferritin dalam jumlah lebih banyak dibandingkan genotipe atau varietas padi yang tidak tahan cekaman kelebihan Fe.

Kelebihan Fe yang banyak terdapat pada lahan pasang surut di Provinsi Riau akan berpotensi meracuni tanaman padi. Akan tetapi tanaman memiliki mekanisme tersendiri untuk mengatasi kelebihan Fe tersebut. Salah satunya dengan melibatkan protein ferritin. Untuk analisis molekuler seperti keanekaragaman hayati, analisis sekuen gen dan kloning membutuhkan DNA total. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi DNA total pada lima varietas padi yang diteliti.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan Januari-Mei 2014 di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

Lokasi Pengambilan Sampel Penelitian

Lokasi pengambilan benih padi adalah di Desa Bantan Air, Kecamatan Bantan, Bengkalis-Riau. Desa ini terletak di daerah pesisir pantai dengan kondisi terdapat lahan pasang surut dimana sebagian besar penduduknya bermata pencaharian sebagian petani memanfaatkan lahan tersebut untuk bercocok tanam dengan komoditas utamanya adalah padi (*Oryza sativa* L.).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah gelas ukur, kertas merang, boks-boks kecil, wadah (ember), gunting, mortar dan pestel, spatula, tabung reaksi, pinset, sentrifus, tabung 1,5 ml, mikropipet, tip, gelas beaker, pH meter, *hot plate*, alat elektroforesis, kulkas/*freezer*. Bahan tanaman yang akan digunakan pada penelitian ini adalah genotipe padi lokal Riau yang telah dieksplorasi dari Bengkalis, yaitu Amat Candu, Korea, dan Sadani.

Varietas pembanding yang digunakan adalah varietas padi Mahsuri sebagai varietas padi yang tahan cekaman kelebihan Fe dan IR64 sebagai varietas padi yang tidak tahan cekaman kelebihan Fe. Kedua varietas diperoleh dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi Kebun Percobaan Tanaman Padi Muara, Bogor, Jawa Barat. Bahan-bahan lain meliputi : akuades, bayclin, tanah : pupuk (3:1), Nirogen cair, fenol, kloroform, isopropanol, akuabidestilata (dH₂O), etanol absolut 70%, buffer CTAB (komposisi : IM Tris HCl pH 9; 0,5 M EDTA Ph 8,0; 5M NaCl; dH₂O; 0,2% 14 M BME, 2% CTAB), RNase, TE (0,5 M EDTA pH 8,0; IM Tris- HCl PH 8,0. Campuran PCR (1x buffer PCR, 50 µg/µl DNA, 0,2 µM , masing-masing primer OsFer2_F_ekson6 dan OsFer2_R_ekson8, 1 U taq DNA Polymarase. Bahan-bahan untuk elektroforesis adalah 1% gel agarose, 1x Buffer TBE, *loading dye*, 1 kb DNA *ladder*, etidium bromida.

Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini untuk mendapatkan molekul total DNA maka

dilakukan empat prosedur penelitian yang terdiri dari :

Sterilisasi Biji Padi

Sebelum biji-biji ditanam disterilisasi terlebih dahulu. Biji dipilih dengan cara dengan ditekan sedikit menggunakan tangan untuk mengetahui viabilitas biji padi tersebut. Apabila biji terasa utuh atau tidak kisut biji padi siap untuk disterilisasi dan ditanam. Biji-biji dicuci dengan larutan campuran 2 ml bayclin + 18 ml akuades. Biji-biji dimasukkan ke dalam larutan tersebut dan ditunggu hingga 15 menit, bilas dengan akuades 3 x, lalu direndam di dalam akuades selama semalam. Setelah itu biji dimasukkan ke dalam kotak yang telah diberi kertas merang basah untuk dikecambahkan selama 3-5 hari pada kondisi gelap mengikuti prosedur yang telah dilakukan oleh Roslim *et al*, (2010). Kertas merang dijaga agar tetap lembab dengan memberi air sedikit setiap hari.

Penanaman Padi

Setelah kecambah berumur 3-5 hari maka biji siap untuk dipindahkan ke media tanam. Media tanam yang digunakan terdiri dari campuran tanah serta pupuk. Media tanam harus tinggi agar sistem perakaran tanaman tidak terganggu. Campuran tanah dan pupuk dimasukkan ke dalam ember, ditambahkan air dan didiamkan selama beberapa hari sampai campuran membentuk lumpur dan media tanam siap digunakan.

Isolasi DNA Tanaman Padi

Padi yang telah menghasilkan empat helai daun diambil daun

sepanjang 10-15 cm dengan menggunakan gunting steril dan ditimbang seberat 1,5 g diambil, lalu dihaluskan dengan menambahkan nitrogen cair dan digerus menggunakan mortar dan pestel. Setelah digerus, hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung 50 ml dengan menggunakan spatula dan ditambahkan buffer CTAB (100 Mm Tris HCl pH-8 ; 2% (M/V) CTAB; 1,4 M NaCl; 20 Mm EDTA; dan 0,2% β -mercaptoetanol). Tabung direndam dalam *waterbath* dengan suhu 65°C selama 1 jam sambil dibolak-balik hingga homogen, kemudian didinginkan pada suhu ruang.

Setelah itu ditambahkan 1 volume kloroform dan disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Fase atas atau supernatant dipipet dengan menggunakan mikropipet sebanyak 750 μ l lalu dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml steril yang baru, kemudian ditambahkan 1 volume isopropanol sambil dibolak-balik hingga terbentuk benang-benang putih DNA dan disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.

Terbentuk endapan DNA lalu dikeringkan pada suhu 37⁰ C, setelah kering tambahkan 500 μ l TE (10 Mm Tris HCl pH 7,4 dan 1 mM EDTA pH 8 dan 10 mg/ml RNAse. Diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama semalam, setelah itu volume DNA diperbesar dengan penambahan 200 μ l TE dan 700 μ l fenol. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara dibolak-balik secara perlahan selama 10 menit. Disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.

Fase atas atau larutan DNA cair dipindahkan ke dalam tabung 1,5 ml steril yang baru dan ditambahkan 0,8 volume isopropanol sambil dibolak-

balik hingga terbentuk kembali benang-benang putih DNA. Tabung kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Pelet DNA di dasar tabung dikeringanginkan atau dibiarkan larutan DNA total disimpan pada suhu -20° C sedangkan larutan DNA kerja disimpan pada suhu 4°C.

Elektroforesis

Kuantitas DNA diukur menggunakan elektroforesis (*Fisons model fec 360, large horizontal gel system*) pada 1% gel agarose dalam 1x buffer TBE (Tris-Borate-EDTA pH 8.0), tegangan 245 volt selama 30 menit. Gel hasil elektroforesis diwarnai dengan 5 µg/ml etidium bromida, visualisasi di atas lampu UV (*WiseUv WUV-M20, Daihan Scientific*), dan direkam/foto

HASIL DAN PEMBAHASAN

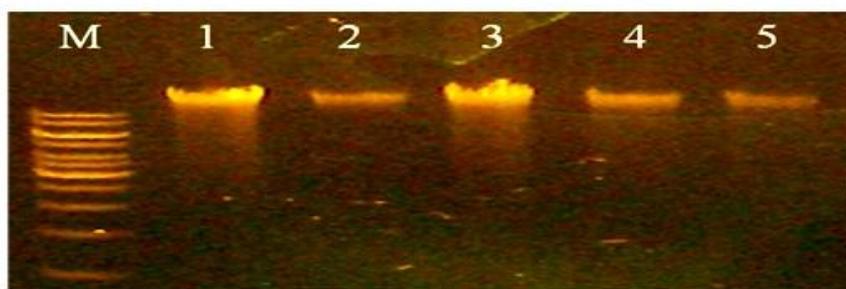
Molekul DNA total

Hasil penelitian ini mendapatkan molekul DNA total dari lima varietas padi (Gambar 1). DNA total yang diperoleh pada varietas padi IR64 dan Amat Candu utuh dan memiliki konsentrasi sangat tinggi. Pada varietas padi Mahsuri, Korea dan Sadani DNA total yang diperoleh juga utuh tetapi konsentrasinya cukup tinggi. Pada

mengering pada suhu ruangan 37° C dan kemudian dibilas dengan etanol 70%. Endapan DNA dilarutkan kembali dengan menambahkan larutan TE sebanyak 100 µl. Untuk penyimpanan proses isolasi digunakan Nitrogen cair dan CTAB yang berfungsi untuk membantu proses lisis sel, terutama mendegradasi dinding sel yang terdapat pada sel tumbuhan. Menurut Subandiyah (2006) dinding sel juga dapat dipecahkan dengan penggerusan menggunakan buffer ekstraksi, detergen seperti sodium dodecil sulfat (SDS), sarkosil, diikuti dengan penghangatan pada suhu 65°C.

Penggunaan kloroform dalam penelitian ini bertujuan untuk memisahkan DNA dengan protein karena kloroform merupakan senyawa yang tidak larut dalam air. Penambahan RNase adalah untuk mendegradasi RNA. RNase merupakan enzim yang berperan dalam proses lisis RNA.

Pemberian TE berfungsi dalam penyimpanan DNA dan menjaga kemurnian DNA. Pengecekan kuantitas DNA menggunakan elektroforesis pada gel agarosa. Elektroforesis digunakan untuk melihat atau memisahkan fragmen DNA di bawah pengaruh medan listrik dikarenakan DNA bermuatan negatif dengan adanya gugus fosfat.



Gambar 1. Molekul DNA total dari lima varietas padi pada 1% gel agarose. Keterangan: M= 1 kb DNA Ladder (*Thermo Scientific*), 1=IR64, 2=Mahsuri, 3=Amat Candu, 4=Korea, 5=Sadani.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini mendapatkan molekul DNA total dari lima varietas padi. Molekul DNA total yang diperoleh pada varietas padi IR64 dan Amat Candu utuh dan memiliki konsentrasi sangat tinggi. Pada varietas padi Mahsuri, Korea dan Sadani DNA total yang diperoleh juga utuh tetapi konsentrasinya cukup tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Saudari Ermi Ningsih atas penyediaan benih padi. Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Genetika Jurusan FMIPA Universitas Riau yang telah memberikan izin atas penggunaan semua fasilitas selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pusat Statistik Riau. 1992. Laporan Tahunan Pemerintah Daerah Riau.

Badan Pusat Statistik Riau. (<http://www.bengkalis.go.id/statis-13-kecamatanbantan.html>). Diakses pada 19 Desember 2013).

Badan Pusat Statistik Nasional. 2010. <http://www.bps.go.id/>. Diakses pada 19 Desember 2013.

Guerinot ML, Yi Y. 1994. Iron: nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiol* 104:815-820..

Makarim AK, Suhartatik E. 2006. Budidaya padi dengan masukan *in situ* menuju perpadian masa depan. *Iptek Tanaman Pangan* 1(1) : 19-29.

Roslim DI, Miftahudin, Suharsono U, Aswidinnoor H, Hartana A. 2010. Karakter root re-growth sebagai parameter toleransi aluminium pada tanaman padi.

Jurnal Natur Indonesia
13(1):82-88,

Subandiyah S. 2006. *Polymerase Chain Reaction untuk Deteksi atau Identifikasi Patogen Tumbuhan*. Beberapa Metode Ekstraksi DNA. Pelatihan dan Workshop Identifikasi DNA

dengan Aplikasi PCR.
Malang. hlm. 43-50.

Suswono. 2010. Produksi padi tahun 2010 (Aram III) diperkirakan meningkat 2,46 persen. <http://www.deptan.go.id>. [12 Desember 2010]