

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

DNA (*deoxyribonucleic acid*) merupakan suatu asam nukleat yang menyimpan semua informasi biologis yang unik dari setiap makhluk hidup dan beberapa virus (Fitriyani, 2019). Struktur kimianya berupa makromolekul kompleks yang terdiri dari 3 macam molekul yaitu gula pentosa (deoksiribosa), asam fosfat dan basa nitrogen (Sumardjo, 2009). Peran utama dari molekul DNA yaitu penyimpanan jangka panjang informasi, sedangkan fungsi dari DNA secara umum untuk menyimpan dan menentukan karakteristik biologis pada makhluk hidup yang sesuai dengan pengaturan koneksi pada molekul yang sangat spesifik dan untuk keperluan sintesis biologis untuk menciptakan protein seluler dan pembentukan molekul RNA (Mugiono dkk, 2011).

DNA yang berada didalam inti sel memiliki fungsi untuk mengendalikan faktor-faktor keturunan (proses pewarisan dan sintesis protein yang terkait dengan peranan pentingnya dalam mengatur aktivitas sel. Sebagai pembawa informasi genetik, DNA berperan dalam penyimpanan replikasi, rekombinansi dan penghantar informasi genetik (Nugroho dkk, 2018). Dalam setiap molekul DNA, urutan nukleotida sudah baku karena urutan ini merupakan isyarat bagi normalnya informasi genetik (Yusni, 2009). Urutan dari pasangan basa pada untai DNA mengandung informasi genetik dalam bentuk kode yang menyandi sejumlah besar protein yang ada dalam sel (Alatas,2006).

Isolasi DNA merupakan teknik yang penting dalam pengembangan ilmu molekuler, derajat kemurnian dan kualitas DNA yang dihasilkan dalam isolasi DNA sangat mempengaruhi hasil yang akan diperoleh (Langga, 2012). Secara umum, prosedur ekstraksi yang baik untuk isolasi DNA mencakup tiga hal penting, yaitu harus bisa dihasilkan DNA dengan kemurnian yang tinggi,

DNA nya harus utuh dan jumlahnya mencukupi (konsentrasi tinggi) (Clark, 2000). Isolasi DNA juga merupakan langkah pertama dalam studi sekuen DNA dari populasi DNA kompleks dan dalam analisis struktur genom dan ekspresi gen. Kuantitas, kualitas dan integritas DNA akan mempengaruhi hasil yang diperoleh secara langsung (Surzycki, 2000).

Menurut Peccia dan Hernandez (2006) bahwa pada dasarnya prinsip dari isolasi DNA terdiri dari melisiskan sel dan memurnikan asam nukleat (DNA), Lisis merupakan perusakan dinding dan melepaskan DNA, hal ini bisa dilakukan dengan cara fisik maupun kimia. Pemurniaan DNA merupakan proses untuk memisahkan DNA dari lisat sel (protein, karbohidrat, lipid) dan kontaminan lain. Sedangkan pada tanaman anggrek, Daun muda merupakan organ tanaman yang paling sering menghasilkan DNA yang berkualitas dibandingkan akar, batang, dan lainnya. Hal itu disebabkan berdasarkan tekstur dari sumber organ yang digunakan. Pada umumnya bagian akar dan batang tanaman anggrek akan memberikan hasil sedikit kotor dibandingkan daun muda (Nicholl, 1993; Surzycki, 2000).

Perkembangan teknologi saat ini telah menghasilkan *kit* untuk isolasi DNA yang berbasis pada ketiga metode tersebut, *Kit* untuk isolasi DNA ini dikeluarkan oleh beberapa perusahaan dagang, salah satu produknya ialah *Geneaid Kit*, *QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)*. *QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)* merupakan *kit* yang digunakan khusus untuk isolasi DNA tanaman (Hidayat, 2015). Namun yang menjadi kendala adalah terkadang dalam melakukan isolasi DNA, ditemukan DNA yang memiliki kualitas dan kuantitas yang rendah. Hal tersebut dapat diketahui dari konsentrasi DNA nya (Mawardi, 2016). Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan untuk memperoleh DNA yang berkualitas, yakni komposisi penambahan larutan buffer saat dilakukan penggerusan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber DNA, serta penghilangan enzim yang menghambat polisakarida, perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti

selulosa dan protein, serta pemurnian DNA dan organ tanaman (Nicholl, 1993; Surzycki, 2000).

Kuantitas dan kualitas DNA dari hasil isolasi dapat dilihat dari konsentrasi dan kemurnian suatu DNA dengan melakukan spektrofotometer dan elektroforesis gel, Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein diukur pada panjang gelombang 280 (Syafaruddin dkk, 2011). Kemurnian larutan DNA dapat dihitung melalui perbandingan A_{260} nm dengan A_{280} nm. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler pada rasio A_{260}/A_{280} adalah 1,8 – 2,0 (Sambrook and Russel, 2001). 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.

Belum ada laporan penelitian sebelumnya yang melakukan isolasi DNA pada Hanjeli (*C. lacryma-jobi L.*) menggunakan *Kit Geneaid*. Selain itu, belum ada data hasil isolasi DNA menggunakan sampel organ tanaman Hanjeli berupa akar, batang, daun, dan biji. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk melihat kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA pada berbagai sampel organ yang diisolasi menggunakan *Kit Geneaid* pada Hanjeli.

Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian ini dilakukan pengamatan dan analisis kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA tanaman Hanjeli. Untuk mengamati dan menganalisa kualitas dan kuantitas berupa kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi dengan menggunakan elektrogram hasil elektroforesis dan menggunakan spektrofotometer. Hasil dari pengamatan dan analisis ini nantinya sebagai data dari penelitian dasar molekuler pada tanaman Hanjeli yang dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan.

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah maka dapat diidentifikasi masalah penelitian yakni :

1. Melihat kualitas dan kuantitas berupa kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA Hanjeli dari akar, batang, daun dan biji dengan menggunakan metode *Kit Geneaid* hasil uji elektroforesis dan nanophotometer.
2. Melihat kualitas DNA Hanjeli hasil isolasi DNA dari sampel organ akar, batang, daun, dan biji dari hasil uji kualitas elektroforesis.
3. Melihat kuantitas DNA Hanjeli hasil isolasi DNA dari sampel organ akar, batang, daun, dan biji dari hasil uji kuantitas nanophotometer.

1.3. Batasan Masalah

Agar permasalahan tidak meluas, penelitian dibatasi dengan :

1. Mengisolasi DNA tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid*.
2. Mengetahui kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan melihat hasil elektroforesis.
3. Mengetahui kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan menggunakan spektrofotometer (nanophotometer).

1.4. Rumusan Masalah

Dari uraian diatas dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan melihat hasil elektroforesis.
2. Bagaimana kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan menggunakan spektrofotometer (nanophotometer).

1.5. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan melihat hasil elektroforesis.
2. Mengetahui kemurnian, keutuhan, dan konsentrasi DNA hasil isolasi tanaman Hanjeli pada sampel organ akar, batang, daun, dan biji menggunakan metode *Kit Geneaid* dengan menggunakan spektrofotometer (nanophotometer).

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai:

1. Sumber informasi tentang integritas DNA perbedaan sampel organ tanaman (Akar, Batang, Daun, dan Buah) dengan menggunakan metode *Kit* untuk digunakan dalam analisis molekuler tanaman Hanjeli.
2. Sebagai data awal dari penelitian dasar molekuler pada tanaman Hanjeli yang dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan.