

PENGGUNAAN BUFFER ALTERNATIF UNTUK ISOLASI DNA GENOMIK PADA TANAMAN HUTAN

(*Using alternative buffer for DNA genomic isolation in forest trees*)

Imam Mahadi* , Zulfarina , Megawati Anggraini

Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Riau
Kampus Bina Widya Km. 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru, Riau, 28293, Indonesia

Article Info

Article History:

Received 19 September 2020; Accepted 25 May 2021; Published online 25 August 2021

Kata Kunci:

Buffer, Isolasi DNA, Konsentrasi DNA, Optimasi

Keywords:

Buffer, DNA isolation, DNA concentration, optimization

How to cite this article:

Mahadi, I., Zulfarina & Anggraini, M. (2021). *Using alternative buffer for DNA genomic isolation in forest trees*. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*, 10(2), 117-130. doi : <http://dx.doi.org/10.18330/jwallacea.2021.vol10iss2pp117-130>

ABSTRAK

Optimasi prosedur dapat dilakukan terhadap jenis larutan *buffer* yang digunakan atau dari teknik penanganan fisik dalam pelaksanaan ekstraksi pada tanaman kehutanan pada pemisahan *Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)* genom dari senyawa lain. Penelitian ini menggunakan tiga jenis *buffer* yaitu: 1) CTAB, 2) Deterjen mengandung surfaktan *Alkyl Benzene Sulfonate (ABS)* dan 3) Deterjen mengandung surfaktan *Sodium Laureth Sulphate (SLS)*. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan metode isolasi DNA yang optimal dengan menggunakan *buffer* alternatif pengganti CTAB secara optimal, serta untuk mempermudah isolasi DNA di daerah-daerah terpencil yang umumnya sulit memperoleh CTAB untuk menghasilkan DNA genom yang berkualitas baik serta jumlah DNA yang memadai sesuai kepentingan kajian yang berbasis DNA pada tanaman kehutanan. Parameter yang diukur pada penelitian yaitu keberadaan DNA dan konsentrasi DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi DNA 12 spesies tanaman hutan berhasil dilakukan dengan baik menggunakan *buffer* CTAB dan deterjen mengandung surfaktan *Alkyl Benzene Sulfonate (ABS)* sedangkan untuk *buffer* deterjen mengandung surfaktan *Sodium Laureth Sulphate (SLS)* tidak berhasil dilakukan. Hal ini dibuktikan dengan terlihatnya fiber atau benang putih pada supernatan setelah pemberian isopropanol yang kemudian dibuktikan dengan visualisasi pita DNA genomik dari hasil elektroforesis dan hitungan nanodrop spektrofotometer. Kuantitas DNA (konsentrasi DNA) tertinggi terdapat pada 19 sampel tanaman yang menggunakan *buffer* CTAB dan deterjen surfaktan ABS dengan konsentrasi sebesar 1.403,8 - 3.412,7 ng/ μ l. Dapat disimpulkan bahwa selain *buffer* CTAB, *buffer* deterjen surfaktan ABS juga dapat digunakan sebagai *buffer* alternatif untuk isolasi DNA pada tanaman kehutanan.

ABSTRACT

DNA optimization procedures can be carried out on the type of buffer used during extraction or physical handling techniques in separating genomic DNA from other compounds. The research using Three types of buffer: 1. CTAB, 2. Detergents containing Alkyl Benzene Sulfonate (ABS) surfactants and Three Detergents containing Sodium Laureth Sulphate (SLS) surfactants. This study aims to obtain an optimal DNA isolation method to produce genomic DNA of good quality and sufficient quantity so that it can be used for genetic diversity analysis in forest trees and to determine the optimal alternative buffer for CTAB to facilitate DNA isolation in remote areas, which generally hard to get CTAB. The parameters measured in this study were the presence of DNA and DNA concentration. The results showed that DNA isolation of 12 species of forest trees was successfully carried out using CTAB buffer and Detergent containing ABS surfactants by visualizing the genomic DNA bands from the results of the electrophoresis and Nanodrop spectrophotometer meanwhile Detergent containing SLS surfactants buffer was not successful in DNA isolation. The highest DNA quantity (DNA concentration) was found in 19 samples using CTAB buffer and the detergent containing ABS surfactants buffer with a concentration of 1403,8 - 3412,7 ng/ μ l. The conclusion of this study was CTAB buffer and the Detergent containing ABS surfactants can also be used as an alternative to a simple buffer for DNA isolation experiments.

Read online



Scan this QR code with your Smart phone or mobile device to read online.

* Corresponding author. Tel: +62 81371555774

E-mail address: imam.mahadi@lecturer.unri.ac.id (I. Mahadi)



I. PENDAHULUAN

Program pembangunan kehutanan Indonesia salah satu tujuannya adalah pengembangan tanaman kehutanan. Hal ini diharapkan dapat meningkatkan perekonomian nasional ke depan, karena tanaman kehutanan bisa menjadi prospek masa depan untuk menggantikan peranan hutan alam. Hutan tanaman dapat berperan dalam memenuhi kebutuhan bahan baku industri kehutanan, peningkatan pendapatan dan kesejahteraan masyarakat tani yang berada di sekitar hutan. Program kegiatan pembangunan kehutanan tidak hanya tertumpu pada peningkatan produktivitas tanaman hutan saja akan tetapi juga melakukan kegiatan perbaikan ekosistem hutan dan konservasi sumber genetik tanaman. Untuk mendukung kegiatan pembangunan hutan tanaman tersebut salah satunya adalah dengan kajian pengembangan jenis tanaman potensial melalui bioteknologi tanaman, khususnya tanaman hutan yang berpotensi dijadikan hutan tanaman industri. Menurut Howell (2014) langkah awal dalam kajian bioteknologi molekular tanaman adalah proses ekstraksi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) sebagai dasar pengembangan bahan genetik tanaman. Hal ini juga termasuk pada tanaman kehutanan. Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan DNA berkualitas tinggi merupakan satu metode dasar yang harus dipenuhi dalam analisis molekuler (Nurkamilia & Pharmawati, 2014).

Menurut Doyle dan Doyle (1987) keberhasilan isolasi DNA dipengaruhi oleh penggunaan *buffer* sebagai larutan penghancur dinding sel tanaman sebelum ekstraksi DNA dilakukan. Pada pelaksanaan isolasi DNA, selain optimalisasi suhu dan lama inkubasi, penggunaan *buffer* juga memainkan peranan penting dalam menggerus (lisis) dinding sel tanaman, dimana DNA genom dapat terdegradasi dari nukleus dan sitoplasma tanaman. *Buffer* juga berperan untuk melindungi DNA genom dari degradasi akibat senyawa sekunder yang dilepaskan ketika sel dihancurkan (Langga et al., 2012). Menurut Sahoo et al. (2014) penggunaan *buffer* dapat menentukan kualitas dan kuantitas DNA. Umumnya ekstrak DNA menggunakan *buffer Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB).

Menurut Syafaruddin et al. (2011) *buffer* CTAB merupakan *buffer* yang umum digunakan dalam teknik isolasi DNA dan dapat memperoleh konsentrasi DNA yang cukup tinggi serta tingkat kemurnian yang baik, namun harga CTAB ini relatif mahal. Selain itu, *buffer* CTAB memerlukan waktu untuk memesannya dan tidak tersedia di semua daerah, oleh sebab itu perlu untuk menggunakan *buffer* alternatif seperti deterjen. Deterjen merupakan salah satu produk industri yang digunakan dalam kehidupan sehari-hari, terutama untuk keperluan rumah tangga dan industri. Deterjen dapat berbentuk cair atau bubuk yang mengandung konstituen bahan aktif berupa *surface active agents* yang disingkat menjadi surfaktan (*Surfactant*) yaitu *Alkyl Benzene Sulfonate* (ABS) dan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) sebesar 10%-30%. Deterjen memiliki kandungan bahan aktif surfaktan <20% termasuk kategori rendah yang disebut sabun dan deterjen yang mengandung bahan aktif surfaktan >20% termasuk kategori tinggi atau keras.

Menurut Yulianti (2006), deterjen merupakan bahan pelarut yang dapat dijadikan sebagai *buffer* alternatif yang berperan untuk melarutkan lemak dan protein, penghacuran atau penghancuran dinding sel tanaman (lisis) dan penguraian polissakarida sel tumbuhan, karena kedua jenis deterjen ini mengandung senyawa surfaktan seperti ABS, SLS, SAS, LAS hanya berbeda pada persentase kosentrasi bahan aktifnya. Yi et al. (2018) menambahkan bahwa surfaktan yaitu bahan aktif permukaan yang berfungsi dapat menurunkan tegangan permukaan untuk mempermudah peluruhan, penyebaran, dan pemerataan. Deterjen mempunyai keunggulan antara lain peluruhan lemak, penguraian protein yang lebih baik serta lisis permukaan sel tanaman yang mengandung polisakarida. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *buffer* alternatif seperti deterjen atau sabun dengan kandungan bahan aktif surfaktan pada ekstraksi DNA.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode alternatif pengganti *buffer* CTAB yang murah dan mudah didapat untuk isolasi DNA tanaman hutan sehingga diharapkan dapat menghasilkan DNA genom yang berkualitas baik serta jumlah yang

memadai. Selanjutnya *buffer* tersebut dapat digunakan untuk keperluan analisis DNA sebagai alternatif pengganti CTAB untuk mempermudah pelaksanaan kegiatan isolasi DNA di daerah-daerah terpencil yang umumnya sulit memperoleh CTAB.

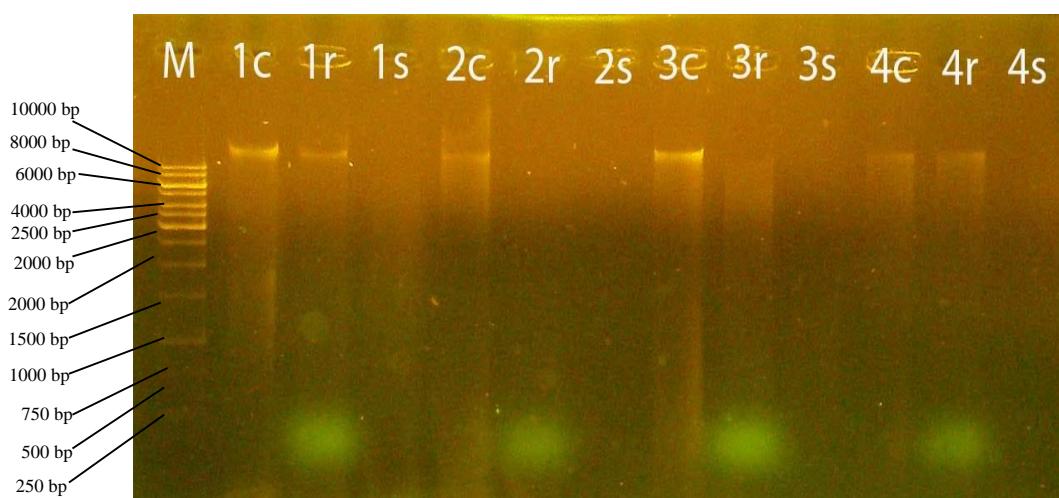
II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Data dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pengambilan sampel daun (plastik dan gunting). Alat untuk isolasi DNA: mortar, 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 transluminator (wiseuv WUV-M20, Daihan Scientific) dan kamera (Olympus SP-500 UZ). Alat untuk amplifikasi PCR yaitu; Mesin PCR merek Hercuan Lab Systems.

Penelitian ini menggunakan 12 jenis tanaman kehutanan yaitu resak (*Cotyledobium burckii*), rengas (*Gluta velutina*), tembusu (*Fagraea sororia Roxb*), pedada (*Sonneratia*

caseolaris) kempas (*Koompassia malaccensis* Maingay), kelat (*Syzygium palembanica* Merr), kulim (*Scorodocarpus borneensis* (Baill) Becc), ulin (*Eusideroxylon zwagerii* Teysm. & Binnend), meranti (*Shorea platyclados*), kruwing (*Dipterocarpus crinitus* Dyer), marpoyan (*Rodamnia cinerea* Jack), marsawa (*Anisoptera marginata* Korth) dan nibung (*Oncosperma tigillarium* (Jack)). Tanaman tersebut merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomis tinggi di Riau terutama untuk mebel dan industri, dan saat ini terancam punah akibat deforestasi dan pengembangan perkebunan sawit.

Bahan kimia yang digunakan untuk ekstrak DNA adalah 3 jenis *buffer*: 1). *Buffer* CTAB (komposisi: 1M Tris HCl pH 8; 0,5M EDTA pH 8; 5M NaCl; 0,2% 14M β -ME; Aquabidestilata), kloroform (CIAA), isopropanol, TE (0,5 M EDTA pH 8,0 dan 1M Tris-HCl pH 8,0). 2). *Buffer* deterjen dengan kandungan bahan aktif surfaktan *Alkyl Benzena Sulfonat* (ABS) (Pada penelitian ini digunakan deterjen cair komersial yang mengandung bahan aktif surfaktan 24%) 3). *Buffer* deterjen dengan kandungan surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS), (Pada penelitian ini digunakan produk deterjen komersial sabun cair yang mengandung bahan



Keterangan (Notes):

M : Marker 1 Kb Ladder
1c : Resak CTAB
1r : Resak deterjen ABS
1s : Resak deterjen SLS
2c : Kempas CTAB

2r : Kempas deterjen ABS
2s : Kempas deterjen SLS
3c : Tembusu CTAB
3r : Tembusu deterjen ABS

3s : Tembusu deterjen SLS
4c : Pedada CTAB
4r : Pedada deterjen ABS
4s : Pedada deterjen SLS

Gambar 1. Keberadaan DNA genomik hasil elektroforesis setiap spesies dengan marker 1kb
Figure 1. Existence of electrophoretic genomic DNA from each species with a marker of 1kb

aktif surfaktan 18%) (Yulianti, 2006). 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).

A. Metode Pengambilan Sampel

Sampel daun diambil dari daun yang masih muda yang sudah membuka penuh dari pucuk tanaman, kemudian digunting dengan ukuran 1-2 cm dan dimasukkan dalam plastik yang bersih. Selanjutnya sampel daun diberi silika gel untuk mempercepat penyerapan air dari sampel daun agar cepat kering. Sampel ditutup rapat.

B. Ekstrak DNA

Metode ekstrak DNA menggunakan metode Doyle dan Doyle (1987). Buffer ekstraksi yang digunakan yaitu CTAB sebagai buffer acuan standar ekstrak. Deterjen surfaktan *Alkil Benzena Sulfonat* (ABS) dan deterjen surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) merupakan buffer alternatif sebagai perlakuan. Masing-masing tanaman diekstrak dengan perlakuan 1 sampel tanaman hutan sebanyak 1 gr sampel menggunakan buffer perlakuan yaitu buffer CTAB sebanyak 3 ml, 1 sampel buffer deterjen surfaktan *Alkil Benzena Sulfonat* (ABS) sebanyak 3 ml dan 1 sampel

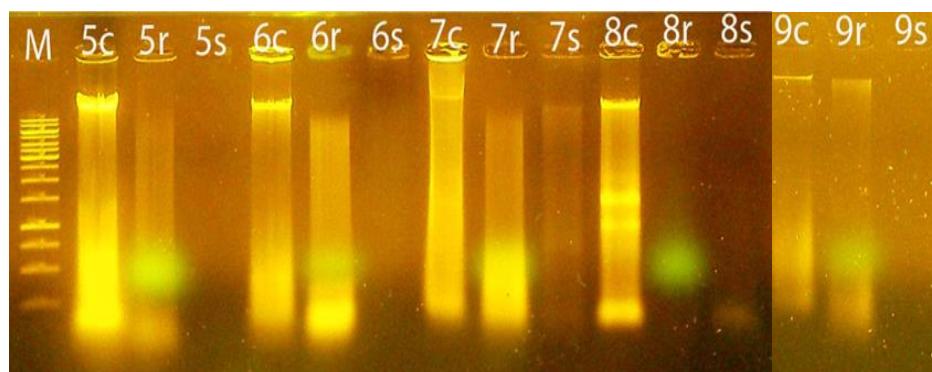
buffer deterjen surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) sebanyak 3 ml yang digerus menggunakan nitrogen cair dengan tujuan membantu pelisan pada dinding sel tumbuhan.

C. Uji Kualitatif

Uji kualitatif dilakukan menggunakan teknik elektroforesis. Perkiraan keberadaan DNA yang ditunjukkan dengan adanya pita (*band*) yang jelas dan utuh pada gel agarose. Teknik elektroforesis digunakan yaitu gel agarose konsentrasi 1% pada tangki berisi buffer 1x TAE, dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis kemudian diamati di bawah sinar UV di dalam alat UV Transluminator (UVP, UK) dan difoto dengan kamera *olympus SP-500UZ*.

D. Purifikasi DNA

Sebelum kuantitas DNA dihitung, maka dilakukan purifikasi atau pemurnian DNA. Tujuannya untuk menghidrolisiskan RNA yang terdapat dalam larutan DNA. DNA yang didapat kemudian dilakukan pemurnian. Digunakan sebanyak 2 μ l RNase (0.02 μ g/ μ l) ke dalam tube template DNA dan dipanaskan pada suhu 37°C selama 45 menit. Kemudian ditambahkan fenol : kloroform : isoamil alkohol (25 ml :24 ml :1 ml). Campuran diguncang secara perlahan-lahan selama 15 menit. Campuran disentrifugasi pada putaran



Keterangan (Notes):

M : Marker 1 Kb ladder
5c : Kelat CTAB
5r : Kelat deterjen ABS
5s : Kelat deterjen SLS
6c : Kulim CTAB

6r : Kulim deterjen ABS
6s : Kulim deterjen SLS
7c : Ulin CTAB
7r : Ulin deterjen ABS
7s : Ulin deterjen SLS
8c : Meranti CTAB

8r : Meranti deterjen ABS
8s : Meranti deterjen SLS
9c : Rengas CTAB
9r : Rengas deterjen ABS
9s : Rengas deterjen SLS

Gambar 2. Keberadaan DNA genomik hasil elektroforesis setiap spesies dengan marker 1kb
Figure 2. Existence of electrophoretic genomic DNA from each species with a marker of 1kb

12 000 rpm selama 10 menit dan lapisan larutan atas dipindahkan ke tiub 1.5 ml baru. DNA yang sudah kering dilarutkan 50 μ l TE. Pelet DNA yang murni diinkubasi dan disimpan pada suhu -20°C.

E. Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif dilakukan pada larutan DNA stok sampel tanaman dengan menggunakan alat nanodrop spektrofotometer (Thermo Scientific, USA). Selanjutnya kemurnian larutan DNA diukur dari nilai perbandingan antara absorbansi pada panjang gelombang 260 nm (λ_{260}) dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 280 nm (λ_{280}). Pengukuran kuantitatif DNA ini mengikuti Sambrook *et al.* (1989) DNA yang kemurniannya baik memiliki nilai perbandingan $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ sebesar 1.8-2.0 (Sambrook *et al.*, 1989). Satuan konsentrasi DNA yang digunakan adalah ng/ μ l.

F. Pengamplifikasi PCR

Amplifikasi PCR dilakukan dalam campuran 25 μ l yang terdiri 2.5 μ l buffer PCR (20mM Tris-HCl pH 8.3, 100 mM KCl) (Promega), 3 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP, 0,5 μ l primer *trnT-trnL* (5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3' forward dan

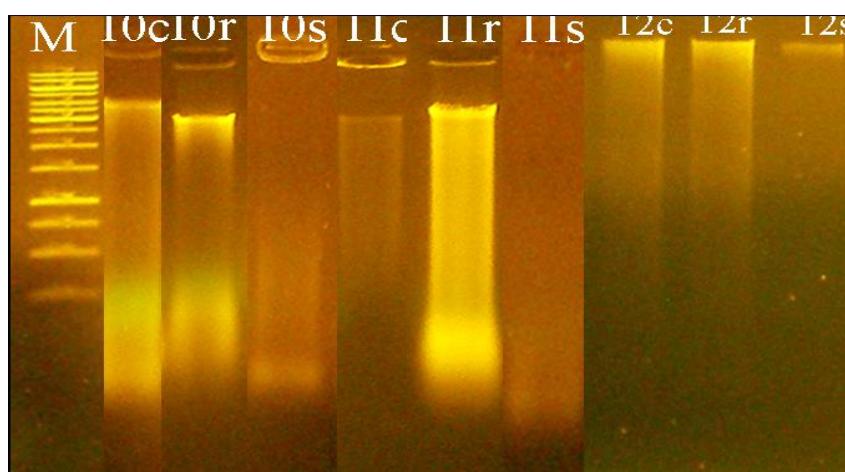
5'-ATTGAACTGGTGACACGAG-3' reverse), 2 μ l *Taq* Polimerase (Promega) serta 20 ng templat DNA genomik. Amplifikasi dijalankan menggunakan 'Themal cycle' Gene Amp® PCR system 9700 Perkin Elmer untuk 35 siklus dengan waktu 2 menit pra-denaturasi pada suhu 94°C, 1 menit denaturasi akhir pada suhu 94°C, selanjutnya annealing selama 1 minit pada suhu 55°C, ekstensi selama 2 menit pada suhu 72°C, 10 menit ekstensi akhir pada suhu 72°C dan inkubasi pada suhu 4°C. Hasil PCR dilihat menggunakan elektroforesis Gel agaros 1,5% dalam penimbang TBE dengan tegangan 65V selama 2,5 jam.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Ekstrak DNA

Hasil ekstraksi DNA 12 spesies tanaman yaitu; resak, tembusu, pedada, kempas, kelat, kulim, ulin, meranti, kruwing, marpoyan, marsawa, dan nibung diberi perlakuan *buffer* berbeda yaitu *buffer* CTAB, *buffer* deterjen mengandung surfaktan *Alkyl Benzene Sulfonate* (Deterjen ABS) dan *buffer* deterjen mengandung surfaktan SLS (Deterjen SLS) menunjukkan kualitas pita genomik DNA yang bervariasi.

Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 1, 2, dan 3 memperlihatkan bahwa terdapat pita DNA yang tampak pada



Keterangan (Notes):

10c : Marpoyan CTAB
10r : Marpoyan deterjen ABS
10s : Marpoyan deterjen SLS
11c : Marsawa CTAB

11r : Marsawa deterjen ABS
11s : Marsawa deterjen SLS
12c : Nibung CTAB
12r : Nibung deterjen ABS
12s : Nibung deterjen SLS

Gambar 3. Keberadaan DNA genomik hasil elektroforesis setiap spesies dengan marker 1 kb
Figure 3. Existence of electrophoretic genomic DNA from each species with a marker of 1kb

beberapa sampel dan ada pula yang tidak tampak. Keberadaan DNA pada sampel setelah elektroforesis dapat dilihat pada [Tabel 1](#).

Berdasarkan [Tabel 1](#) diketahui bahwa dari total 36 sampel tanaman, pita DNA genomik terlihat pada 24 sampel yaitu: 1c, 1r, 2c, 3c, 3r, 4c, 4r, 5c, 5r, 6c, 6r, 7c, 7r, 7s, 8c, 9c, 9r, 10c, 10r, 11c, 11r, 12c, 12r dan 12s. Sedangkan pita DNA yang tidak tampak berjumlah 12 sampel yaitu pada sampel 1s, 2r, 2s, 3s, 4s, 5s, 6s, 8r, 8s, 9s, 10s, dan 11s. Dari ke-12 sampel yang tidak terlihatnya pita DNA ini, 10 sampelnya ialah yang menggunakan *buffer* Deterjen yang mengandung surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) (Deterjen Surfaktan SLS). Ketidakberhasilan deterjen

surfaktan SLS dalam isolasi DNA ini disebabkan karena *buffer* ini merupakan deterjen sabun cair memiliki komposisi yang lebih sederhana dan konsentrasi bahan aktif berupa surfaktan dalam jumlah lebih rendah 18% (<20%) dibandingkan dengan *buffer* deterjen surfaktan ABS 24% (>20%). Deterjen sabun cair yang tersebar di pasaran dan digunakan dalam isolasi ini mengandung bahan aktif *Sodium Laureth Sulphate* (SLS). Senyawa SLS merupakan surfaktan anionik golongan deterjen lunak/lemah dengan rantai karbon yang lurus dan mudah diurai oleh mikroorganisme dan air.

Buffer deterjen surfaktan SLS tidak dapat berikatan dengan magnesium dan kalsium

Tabel 1. Keberadaan DNA pada sampel setelah elektroforesis

Table 1. Existence of DNA in samples after electrophoresis

No.	Perlakuan sampel (<i>Sample treatment</i>)	Penyangga (<i>Buffer</i>)	DNA
1	1c : 2 µl Resak	CTAB	✓
2	1r : 2 µl Resak	Deterjen ABS	✓
3	1s : 2 µl Resak	Deterjen SLS	-
4	2c : 2 µl Kempas	CTAB	✓
5	2r : 2 µl Kempas	Deterjen ABS	-
6	2s : 2 µl Kempas	Deterjen SLS	-
7	3c : 2 µl Tembusu	CTAB	✓
8	3r : 2 µl Tembusu	Deterjen ABS	-
9	3s : 2 µl tembusu	Deterjen SLS	-
10	4c : 2 µl Pedada	CTAB	✓
11	4r : 2 µl Pedada	Deterjen ABS	✓
12	4s : 2 µl Pedada	Deterjen SLS	-
13	5c : 2 µl Kelat	CTAB	✓
14	5r : 2 µl Kelat	Deterjen ABS	Smear
15	5s : 2 µl Kelat	Deterjen SLS	-
16	6c : 2 µl Kulim	CTAB	✓
17	6r : 2 µl Kulim	Deterjen ABS	Smear
18	6s : 2 µl Kulim	Deterjen SLS	-
19	7c : 2 µl Ulin	CTAB	✓
20	7r : 2 µl Ulin	Deterjen ABS	✓
21	7s : 2 µl Ulin	Deterjen SLS	Smear
22	8c : 2 µl Meranti	CTAB	✓
23	8r : 2 µl Meranti	Deterjen ABS	-
24	8s : 2 µl Meranti	Deterjen SLS	-
25	9c : 2 µl Rengas	CTAB	✓
26	9r : 2 µl Rengas	Deterjen ABS	✓
27	9s : 2 µl Rengas	Deterjen SLS	-
28	10c : 2 µl Marpoyan	CTAB	✓
29	10r : 2 µl Marpoyan	Deterjen ABS	✓
30	10s : 2 µl Marpoyan	Deterjen SLS	-
31	11c : 2 µl Marsawa	CTAB	Smear
32	11r : 2 µl Marsawa	Deterjen ABS	✓
33	11s : 2 µl Marsawa	Deterjen SLS	-
34	12c : 2 µl Nibung	CTAB	✓
35	12r : 2 µl Nibung	Deterjen ABS	✓
36	12s : 2 µl Nibung	Deterjen SLS	Smear

sehingga tidak mampu menginaktivasi enzim nuklease. Kandungan CAPB (*Cocamidopropyl betaine*) juga terdapat pada deterjen 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 surfaktan ABS khususnya dalam mengisolasi DNA tanaman kehutanan. 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 deterjen sabun cair. Hal ini didasarkan pada tujuan penggunaannya, di mana deterjen digunakan untuk mencuci pakaian, sedangkan sabun digunakan untuk mencuci piring. Senyawa ABS ini dapat meluruhkan ikatan senyawa pada penyusun dinding sel tumbuhan berupa selulosa, hemiselulosa, lignin dan pektin menjadi polisakarida yang terlarut dalam ekstraksi DNA (Syafaruddin *et al.*, 2011) sehingga membentuk supernatan yang berwarna keputihan yang mengendap pada dasar larutan ekstraksi, sehingga dapat terpisah antara larutan supernatan DNA dengan endapan polisakarida.

Ketidakberhasilan pada *buffer* deterjen surfaktan SLS juga disebabkan karena pada beberapa sampel, daun yang digunakan banyak mengandung metabolit sekunder seperti polifenol, alkaloid serta polisakarida yang tinggi sehingga dinding sel lebih sulit lisis hal ini sesuai dengan pendapat Howell (2014) bahwa kandungan polisakarida inilah yang menjadi kontaminan pada pita DNA yang dihasilkan. Kontaminan lain seperti polifenol dalam bentuk teroksidasi mengikat DNA secara kovalen (Couch & Fritz, 1990). Daun yang masih muda bersifat meristematik atau aktif membelah karena masih berada pada tahap pertumbuhan sehingga DNA di dalam selnya lebih banyak.

Kegagalan ekstrak DNA sampel tanaman meranti dengan penggunaan *buffer* deterjen surfaktan ABS pada sampel 8r dapat disebabkan oleh faktor teknis bukan faktor ketidakmampuan surfaktan ABS. Sampel daun larutan ekstraksi berwarna kecokelatan yang disebabkan sampel daun tanaman meranti

sudah mengalami oksidasi terlebih dahulu. Selain itu daun yang mulai kurang segar akibat lokasi pengambilan sampel yang jauh dan lama. Penggunaan sampel tumbuhan yang masih segar dalam ekstraksi DNA sangat berpengaruh, karena apabila sampel dibiarkan terlalu lama dan tidak segera diisolasi maka DNA akan mengalami degradasi dan dapat pula terkontaminasi oleh DNA eksogen, misalnya DNA bakteri (Syafaruddin *et al.*, 2011; Yi *et al.*, 2018). Hal ini juga dijelaskan oleh Robinson (1974) bahwa pada penyiapan bahan tumbuhan untuk mengisolasi komponen senyawa tertentu sangat penting untuk menghindari terbentuknya senyawa jadian. Jaringan hidup diproses terlalu lama, kerja enzim dapat menimbulkan perubahan yang besar pada kandungan kimia tertentu akibat oksidasi dan hidrolisis. Untuk mendapatkan DNA yang berkualitas baik maka sampel segar tanaman lebih direkomendasikan.

Penggerusan sampel daun meranti juga terlihat larutan yang berwarna lebih gelap (kecokelatan) daripada sampel tanaman lain. Warna larutan berwarna cokelat kuning disebabkan karena adanya kandungan tanin pada sampel (Robinson, 1974). Varma *et al.* (2007) menyatakan bahwa DNA yang diisolasi seringkali terkontaminasi oleh polisakarida dan metabolit sekunder lain seperti tanin, pigmen klorofil, alkaloid, dan flavonoid. Afshar *et al.* (2018) menyatakan bahwa salah satu kesulitan dari ekstrak DNA tanaman tinggi adalah proses pelisasan karena memiliki dinding sel yang kuat dan pada beberapa jenis tanaman kontaminasi metabolit sekunder sulit dipisahkan sehingga menurunkan kemurnian DNA.

B. Kualitas Hasil Isolasi Genomik DNA

Kualitas hasil isolasi berdasarkan tingkat ketebalan pita DNA genomik pada seluruh sampel (36 buah) dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil penelitian ini, menunjukkan isolasi DNA ke-36 sampel tanaman berhasil dilakukan dengan metode CTAB dan *buffer* deterjen surfaktan ABS. Berdasarkan Tabel 2, ekstrak DNA daun resak (1c), kelat (5c), kulim (6c), ulin (7c), meranti (8c), marpoyan (10c, 10r) marsawa (11r) menunjukkan kualitas yang paling bagus hal ini disebabkan adanya optimalisasi suhu dan lama inkubasi yaitu sebesar 65°C selama 60 menit hal ini sesuai

Tabel 2. Kualitas hasil isolasi genomik DNA pada 36 sampel tanaman hutan
Table 2. Quality of genomic DNA isolation results in 36 samples of forestry crop

No.	Sampel (Sample)	Penyangga (Buffer)	Kualitas DNA (DNA quality)
1	1c : Resak	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
2	1r : Resak	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tipis
3	1s : Resak	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
4	2c : Kempas	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
5	2r : Kempas	Deterjen ABS	Pita DNA tidak tampak
6	2s : Kempas	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
7	3c : Tembusu	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
8	3r : Tembusu	Deterjen ABS	Pita DNA tidak tampak
9	3s : Tembusu	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
10	4c : Pedada	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
11	4r : Pedada	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tipis
12	4s : Pedada	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
13	5c : Kelat	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
14	5r : Kelat	Deterjen ABS	Smear dan tidak tampak pita DNA
15	5s : Kelat	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
16	6c : Kulim	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
17	6r : Kulim	Deterjen ABS	Smear dan tidak tampak pita DNA
18	6s : Kulim	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
19	7c : Ulin	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
20	7r : Ulin	Deterjen ABS	Smear dan tidak tampak pita DNA
21	7s : Ulin	Deterjen SLS	Pita DNA jelas dan tipis
22	8c : Meranti	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
23	8r : Meranti	Deterjen ABS	Pita DNA tidak tampak
24	8s : Meranti	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
25	9c : Rengas	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
26	9r : Rengas	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tipis
27	9s : Rengas	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
28	10c : Marpoyan	CTAB	Pita DNA jelas dan tebal
29	10r : Marpoyan	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tebal
30	10s : Marpoyan	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
31	11c : Marsawa	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
32	11r : Marsawa	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tebal
33	11s : Marsawa	Deterjen SLS	Pita DNA tidak tampak
34	12c : Nibung	CTAB	Pita DNA jelas dan tipis
35	12r : Nibung	Deterjen ABS	Pita DNA jelas dan tipis
36	12s : Nibung	Deterjen SLS	Pita DNA jelas dan tipis

dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Restu *et al.*, (2012) pada tanaman Suren (*Tooma sureni*) di mana inkubasi selama 60 menit pada suhu 60°C memberikan hasil kualitas DNA terbaik sedangkan sampel tambusu (3r), kelat (5r), kulim (6r), dan ulin (7r) terlihat *smear* dan tidak tampak pita DNA nya. Hal ini disebabkan hasil isolasi DNA mungkin masih banyak mengandung RNA, polisakarida, maupun protein. Selain itu, pita DNA yang *smear* pada sampel Tembusu (3r), Kelat (5r), Kulim (6r), dan Ulin (7r) menunjukkan bahwa DNA terpotong potong. Pita DNA yang *smear* kemungkinan disebabkan karena proses penggerusan yang

terlalu kuat sehingga saat isi keluar DNA menjadi rusak atau terpotong. Hal ini sesuai dengan pendapat Nugroho *et al.* (2016) bahwa pita DNA yang *smear* adalah pita DNA yang terpotong menjadi bagian yang lebih kecil karena adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan oleh gerakan berlebihan saat proses penggerusan atau pada saat membolak-balikkan tabung.

Perlakuan ekstraksi DNA dengan menggunakan *buffer* deterjen ABS pada sampel daun resak (1r), marpoyan (10r), marsawa (11r), dan nibung (12r) menunjukkan kualitas hasil isolasi yang baik

dengan pita DNA yang terlihat cukup tebal. Pita DNA yang tampak ini disebabkan oleh pada buffer deterjen surfaktan ABS yakni *Alkyl Benzene Sulfonat* yang menggantikan CTAB, kemudian ditambah dengan disodium EDTA yang menggantikan EDTA dan *sodium chloride* seperti NaCl yang terdapat pada CTAB. Oleh karena adanya komposisi yang mirip dengan CTAB itu, maka larutan deterjen ABS dan *Linear Alkylbenzene Sulfonat* (LAS) juga dapat menginaktivasi enzim DNase yang akan mendenaturasi DNA yang diisolasi. Deterjen dengan surfaktan ABS >20% akan menyebabkan rusaknya membran sel melalui ikatan yang dibentuk melalui sisi hidrofobik deterjen dengan protein dan lemak pada membran sel sehingga akan 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. Deterjen akan menginaktivasi enzim nuklease dengan cara mengikat ion

magnesium dan kalsium yang dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNAase (Corkill & Rapley, 2008) hal ini sesuai dengan keberhasilan penelitian yang dilakukan oleh Yulianti, (2006) yang menggunakan deterjen sebagai penghambat DNase dalam mengisolasi DNA. Senyawa deterjen dan CTAB sama-sama dapat melisis dinding sel, mendenaturasi protein serta menghambat aktivitas enzim nuklease.

Keberhasilan isolasi DNA ini juga dibantu oleh adanya penambahan nitrogen cair pada saat penggerusan sehingga proses pelisisan sel menjadi lebih efektif. Nitrogen cair mampu mendegradasi dinding sel lebih cepat saat penggerusan sehingga isi sel dapat keluar. Menurut Ari et al. (2019) sampel DNA yang tervisualisasi sebagai pita terang dan tebal memiliki konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa 12 jenis tanaman berhasil diekstrasi menggunakan buffer deterjen surfaktan ABS, deterjen surfaktan SLS dan CTAB. Meskipun

Tabel 3. Kuantitas hasil isolasi genomik DNA pada 23 sampel tanaman hutan
Table 3. Quantity of genomic DNA isolation results in 23 samples of forestry crop

No.	Sampel (Sample)	Penyangga (Buffer)	Konsentrasi DNA (DNA concentration) ng/ μ l	Kemurnian (Purity) $\lambda 260/\lambda 280$
1	1c : Resak	CTAB	2717,4	1,93
2	1r : Resak	Deterjen ABS	2325,6	1,86
3	2c : Kempas	CTAB	2519,7	1,91
4	3c : Tembusu	CTAB	2841,4	1,95
5	4c : Pedada	CTAB	2734,3	1,93
6	4r : Pedada	Deterjen ABS	2432,2	1,87
7	5c : Kelat	CTAB	2914,8	1,97
8	5r : Kelat	Deterjen ABS	972,4	1,81
9	6c : Kulim	CTAB	1905,8	1,84
10	6r : Kulim	Deterjen ABS	878,2	1,76
11	7c : Ulin	CTAB	3412,7	1,97
12	7r : Ulin	Deterjen ABS	1403,8	1,81
13	7s : Ulin	Deterjen SLS	892,7	1,78
14	8c : Meranti	CTAB	2754,4	1,91
15	9c : Rengas	CTAB	2311,2	1,82
16	9r : Rengas	Deterjen ABS	3142,5	1,96
17	10c : Marpoyan	CTAB	2837,1	1,94
18	10r : Marpoyan	Deterjen ABS	3348,3	1,96
19	11c : Marsawa	CTAB	964,9	1,81
20	11r : Marsawa	Deterjen ABS	2687,3	1,92
21	12c : Nibung	CTAB	2673,7	1,92
22	12r : Nibung	Deterjen ABS	2814,8	1,95
23	12s : Nibung	Deterjen SLS	741,2	1,74

CTAB merupakan *buffer* standar dalam proses ekstrak DNA, tetapi *buffer* alternatif deterjen surfaktan ABS 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 deterjen surfaktan ABS sebagai *buffer* alternatif untuk lisis dalam ekstraksi DNA tumbuhan sangat direkomendasikan. Selain deterjen ABS ini mudah diperoleh dan harganya yang murah, deterjen ABS juga mampu melisis dinding sel dengan baik seperti CTAB sehingga hasil elektroforesis menunjukkan pita DNA yang jelas dan tebal.

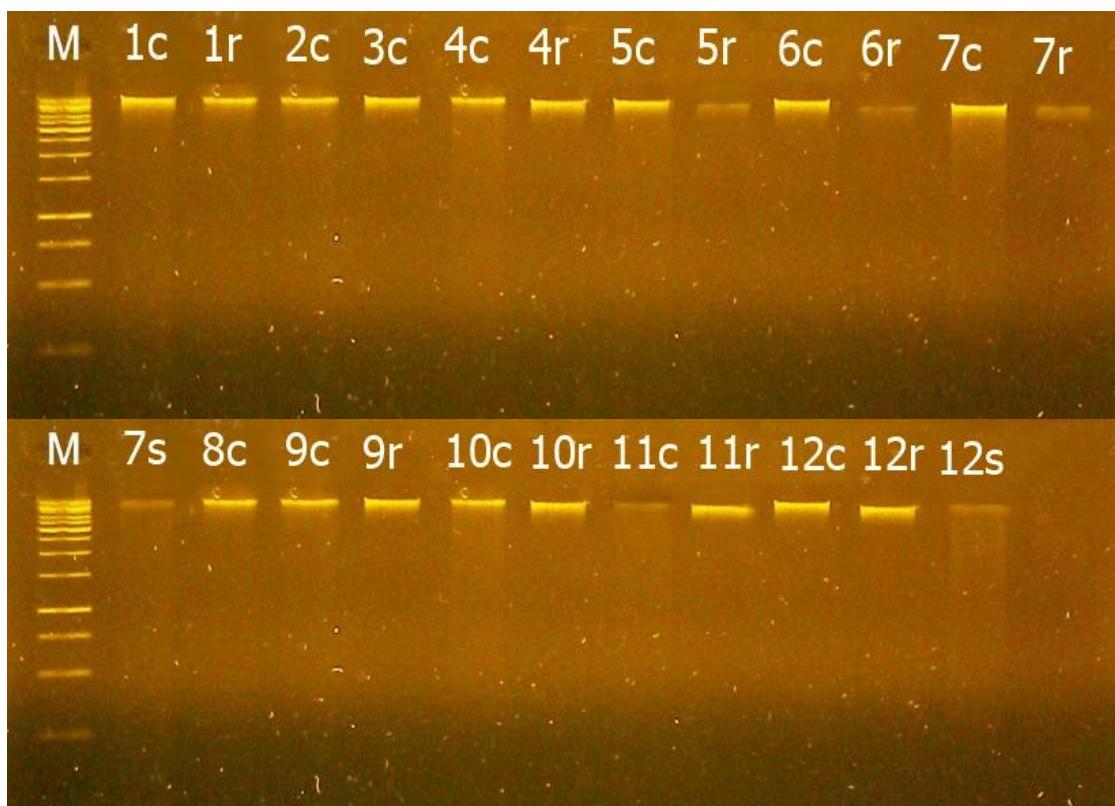
C. Kuantitas Hasil Isolasi Genomik DNA

Uji kuantitatif DNA dilakukan hanya pada 23 sampel tanaman yang menampakkan pita DNA pada uji kualitas, sedangkan sebanyak 13 sampel yang tidak menampakkan pita DNA tidak dilakukan uji kuantitas. Hasil uji kuantitas dapat dilihat pada [Tabel 3](#). Berdasarkan hasil hitungan spektrofotometer

pada gelombang 260 nm dan 280 nm diperoleh nilai kemurnian berkisar antara 1,76-1,97. Sebanyak 20 sampel yaitu 1c, 1r, 2c, 3c, 4c, 4r, 5c, 6c, 7c, 8c, 9c, 9r, 10c, 10r, 11c, 12c dan 12r memenuhi kriteria kemurnian yang baik. Menurut Sambrook *et al* ([1989](#)) Kemurnian DNA yang baik memiliki nilai perbandingan $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ sebesar 1,8-2,0. Sedangkan 3 sampel yaitu 5r, 6r dan 12s memiliki kemurnian yang kurang baik dengan nilai perbandingan di bawah 1,80.

[Tabel 3](#) menunjukkan bahwa konsentrasi DNA tinggi sebanyak 19 sampel yaitu sampel 1c, 1r, 2c, 3c, 4c, 4r, 5c, 6c, 7c, 8c, 9c, 9r, 10c, 10r, 11c, 12c dan 12r dengan konsentrasi berkisar antara 1403,8 - 3412,7 ng/ μ l semua berasal dari *buffer* CTAB dan deterjen surfaktan ABS. Hasil ini selaras dengan hasil pita DNA yang didapat dalam purifikasi DNA ([Gambar 4](#)).

Selanjutnya konsentrasi sampel yang rendah sebanyak 3 sampel yaitu 6r, 7s dan 12s dengan konsentrasi antara 741,2 – 892,7 ng/ μ l yang diikuti dengan rendahnya kemurnian di



Gambar 4. Keberadaan DNA genomik hasil elektroforesis dari purifikasi setiap spesies dengan marker 1 kb

Figure 4. Existence of electrophoretic genomic DNA from purification each species with a marker of 1kb

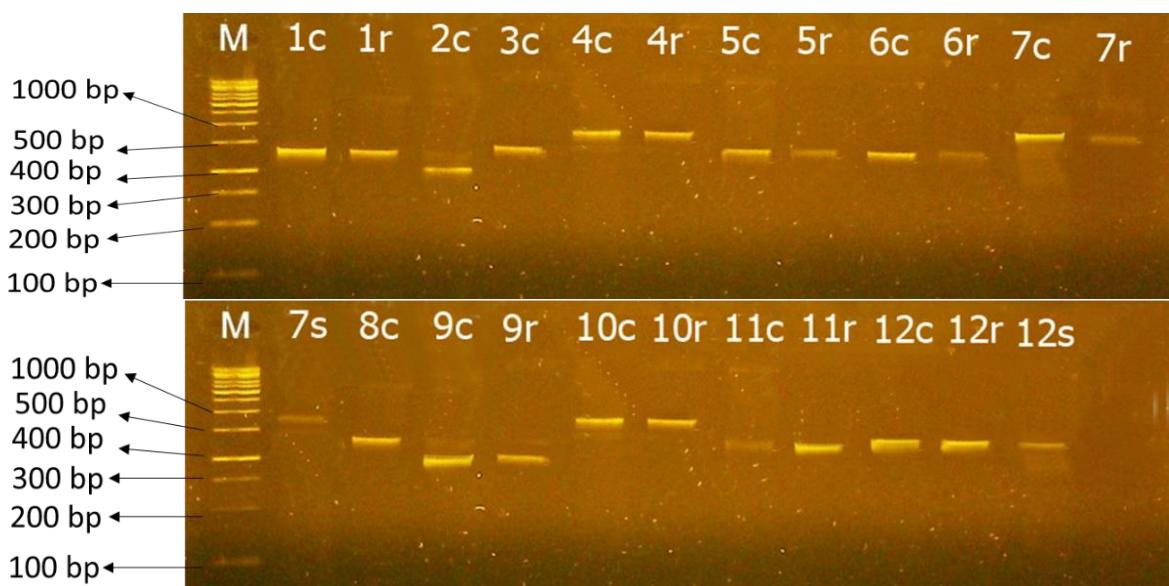
bawah 1,8, dari 3 sampel tersebut 2 sampel yang menggunakan *buffer* deterjen surfaktan SLS.

Diketahui bahwa *buffer* CTAB dan deterjen surfaktan ABS mengandung bahan surfaktan 24% (>20%) yang tinggi yaitu *Alkyl Benzene Sulfonate* dan *Laureth Alkylbenzene Sulphate*, Bahan surfaktan jenis ini biasa dapat menggerus dinding sel tanaman lebih kuat, sedangkan *buffer* deterjen surfaktan SLS mengandung 18% (<20%) surfaktan yang rendah mengandung *Sodium Loureth Sulphate* dan *Sodium Alkyl Benzene Sulphonate* yang dikenal sebagai sabun surfaktan. Jenis ini tidak begitu kuat dalam menggerus dinding sel tanaman yang banyak mengandung polisakarida seperti lignin, kitin, selulosa, maupun hemiselulosa. Menurut Apriyani (2017) deterjen yang mengandung surfaktan seperti *Alkyl Benzene Sulfonate* dan *Laureth Alkylbenzene Sulphate* adalah lebih kuat dalam penguraian polisakarida yang terdapat pada dinding sel tanaman, sehingga penghancuran di dinding sel tanaman lebih menyeluruh maka DNA yang diekstrak terkumpul lebih banyak. Sembilan belas sampel tertinggi diekstraksi menggunakan *buffer* CTAB secara keseluruhan dan *buffer* alternatif deterjen surfaktan ABS. Sampel ini dapat dilanjutkan ke analisis PCR.

D. Amplifikasi DNA dengan Primer *trn T-trn L*

Sebanyak 23 sampel tanaman dari 12 spesies tanaman hutan ini dilakukan pengujian amplifikasi profil DNA dengan menggunakan primer *trn T-trn L*. Hal ini untuk menguji DNA hasil ekstrasi dari *buffer* yang berbeda tersebut dapat dimanfaatkan ke tahap amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Hasil uji terhadap amplifikasi PCR didapatkan bahwa sebanyak 19 sampel yang diekstrak menggunakan *buffer* CTAB dan *buffer* alternatif deterjen surfaktan ABS mengandung konsentrasi DNA tinggi yaitu 964,9 - 3412,7 ng/ μ l menunjukkan profil pita DNA yang jelas, berbanding hasil ekstraksi buffer alternatif deterjen surfaktan SLS yang menghasilkan kecerahan profil pita DNA yang smear, ini dapat dilihat pada [Gambar 5](#) dan [Tabel 4](#).

Semua sampel yang diekstrak menggunakan *buffer* deterjen surfaktan SLS tidak nampak atau buram (*blur*), hal ini disebabkan konsentrasi DNA untuk amplifikasi PCR tidak mencukupi sehingga pita profil DNA yang dihasilkan tidak nampak atau buram. Menurut Nugroho et al. (2016) cetakan DNA 20ng untuk amplifikasi dapat menghasilkan pita DNA yang jelas pada tanaman *Jatropha* spp, sedang jika rendah



Gambar 5. Keberadaan profil pita DNA genomik hasil elektroforesis dari amplifikasi PCR setiap spesies dengan marker *Lambda HindIII*

Figure 5. Existence of electrophoretic band profile genomic DNA from Amplification each PCR species with a marker of *Lambda HindIII*

Tabel 4. Hasil amplifikasi profil DNA dengan menggunakan primer *Trn F - Trn L* terhadap DNA pada sampel pokok hutan yang berhasil di ekstrak
Table 4. Results of amplification of DNA profiles using *Trn F - Trn L* primers against DNA in extracted samples of forest trees

No.	Sampel (Sample)	Penyangga (Buffer)	Pita DNA (DNA band)
1	1c : Resak	CTAB	✓
2	1r : Resak	Deterjen ABS	✓
3	2c : Kempas	CTAB	✓
4	3c : Tembus	CTAB	✓
5	4c : Pedada	CTAB	✓
6	4r : Pedada	Deterjen ABS	✓
7	5c : Kelat	CTAB	✓
8	5r : Kelat	Deterjen ABS	Smear
9	6c : Kulim	CTAB	✓
10	6r : Kulim	Deterjen ABS	Smear
11	7c : Ulin	CTAB	✓
12	7r : Ulin	Deterjen ABS	Smear
13	7s : Ulin	Deterjen SLS	Smear
14	8c : Meranti	CTAB	✓
15	9c : Rengas	CTAB	✓
16	9r : Rengas	Deterjen ABS	✓
17	10c : Marpoyan	CTAB	✓
18	10r : Marpoyan	Deterjen ABS	✓
19	11c : Marsawa	CTAB	Smear
20	11r : Marsawa	Deterjen ABS	✓
21	12c : Nibung	CTAB	✓
22	12r : Nibung	Deterjen ABS	✓
23	12s : Nibung	Deterjen SLS	Smear

dari pada 20ng menghasilkan pita yang samar (*smear*). Menurut Hairuddin (2013) terjadinya smear pada hasil elektroforesis DNA dapat berasal dari sisa-sisa dari larutan yang masih terbawa selama proses isolasi. Hal ini akibat ketidakmampuan *buffer* deterjen SLS dalam melisis dinding sel secara menyeluruh sehingga masih menyisakan senyawa-senyawa dalam isolasi DNA tersebut. Hasil kajian ini menunjukkan bahwa deterjen yang mengandung surfaktan ABS sebagai *buffer* pengganti CTAB dalam melakukan ekstraksi DNA tanaman dapat digunakan sebagai *buffer* alternatif. *Buffer* alternatif ini dapat dijadikan suatu solusi bagi peneliti dalam melakukan ekstraksi DNA khususnya pada daerah yang sulit atau membutuhkan waktu yang lama mendapatkan *buffer* CTAB sebagai *buffer* yang telah biasa digunakan.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

DNA pada 36 sampel (12 spesies tanaman) berhasil diisolasi menggunakan *buffer* CTAB dan *buffer* deterjen surfaktan ABS

yang ditunjukkan dari hasil kualitas pita DNA, dimana terlihat adanya tingkat ketebalan pita DNA yang bervariasi dari hasil elektroforesis. Kuantitas DNA tertinggi terdapat pada sampel 19 sampel tanaman hutan yang diisolasi DNA menggunakan *buffer* CTAB dan *buffer* deterjen surfaktan ABS yaitu sampel resak, kempas, tembusu, pedada, kelat, kulim, ulin, meranti, rengas, marpoyan, marsawa, dan nibung, dengan konsentrasi berkisar antara 1403,8 - 3412,7 ng/ μ l. Isolasi DNA dengan menggunakan *buffer* deterjen surfaktan SLS didapati hasil kuantitas DNA rendah 741,2 - 892,7 ng/ μ l. Penggunaan *buffer* CTAB, pemanfaatan *buffer* deterjen surfaktan ABS mengandung bahan aktif surfaktan *Alkyl Benzene Sulphonate* juga dapat digunakan sebagai *buffer* alternatif pengganti *buffer* CTAB untuk isolasi genomik DNA secara sederhana pada lokasi yang tidak tersedia atau sulit mendapatkan *buffer* CTAB.

B. Saran

Penggunaan *buffer* deterjen yang mengandung bahan aktif *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) dalam proses isolasi DNA

sebaiknya tidak digunakan untuk tumbuhan jenis tanaman hutan. Hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk memperoleh data genomik tumbuh-tumbuhan sebagai bahan riset kelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian (LPPM) Universitas Riau yang telah membantu Dana Hibah DIPA Universitas Riau 2019 dalam menyelesaikan penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

IM: berperan sebagai kontributor utama penelitian. IM melaksanakan penelitian, analisis data, konseptual dan menginterpretasi data hasil dan penulisan artikel, ZR: kontributor anggota pelaksanaan penelitian, analisis hasil, interpretasi hasil, dan penulisan naskah; MA: kontributor anggota, pelaksanaan penelitian, pembuatan gambar dan tabel, dan penulisan naskah.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan bahwa mereka tidak memiliki hubungan keuangan atau pribadi yang mungkin secara tidak wajar mempengaruhi mereka dalam menulis artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afshar, M., Mansour, R., Mohammad, H. F., & Seyyed, F. (2018). Comparative analysis and innovation of a simple and rapid method for high-quality RNA and DNA extraction of kiwifruit. *MethodsX*, 5, 352–361.
- Apriyani, N. (2017). Penurunan kadar surfaktan dan sulfat dalam limbah laundry. *Media Ilmiah Teknik Lingkungan*, 2(1), 37–44.
- Ari, P., Simanjuntak, P., & Suwarno, T. (2019). Pengaruh metoda ekstraksi simplisia multi herbal dan multi ekstrak daun sukun, seledri dan daun salam terhadap aktivitas antikolesterol secara in-vitro. *Medika Tadulako, Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 6(2), 78–87.
- Corkill, G., & Rapley, R. (2008). The manipulation of nucleic acids basic tools and techniques. In J. Walker (Ed.), *Molecular Biotechnology Handbook: Second Edition*. Humana Press.
- Couch, J. A., & Fritz, P. J. (1990). Isolation of DNA from plants high in polyphenolics. *Plant Molecular Biology Reporter*, 8, 8–12.
- Doyle, J., & Doyle, J. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15.
- Hairuddin, R. (2013). Isolasi DNA dan amplifikasi (PCR) genom DNA kopi (*Coffea Sp*) melalui proses elektroforesis gel poliakrilamid. *Dinamika*, 4(1), 43–48.
- Howell, S. H. (2014). Molecular biology. In S. H. Howell (Ed.), *Molecular Biology* (1st ed.). Springer-Verlag New York.
- Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T. (2012). Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex Cofassus Reinw*) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J Sains & Teknologi*, 12(3), 265–276.
- Nugroho, K., Terryana, R. T., Rijzaani, H., & Lestari, P. (2016). Metode ekstraksi DNA pada *Jatropha spp.* tanpa menggunakan nitrogen cair/DNA extraction method of *Jatropha spp.* Without liquid nitrogen. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 22(4), 159–166.
- Nurkamilia, U. S., & Pharmawati, M. (2014). Ekstraksi DNA dari herbarium anggrek. *SIMBIOSIS Journal of Biological Sciences*, 2(1), 135–146.
- Restu, M., Mukrimin, M., & Gusmiaty, G. (2012). Optimalisasi teknik ekstraksi dan isolasi DNA tanaman suren (*Toona Sureni Merr.*) untuk analisis keragaman genetik berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 136–142.
- Robinson, T. (1974). Metabolism and function of alkaloids in plants. *Science*, 184(4135), 430–435.
- Sahoo, R. K., Ansari, M. W., Pradhan, M., Dangar, T. K., Mohanty, S., & Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. *Protoplasma*, 251, 943–953.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). In: Molecular cloning: A laboratory manual. In J. Sambrook (Ed.), *Cold Spring Harbor* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Syafaruddin, Randriani, E., & Santoso, T. J. (2011). Efektivitas dan efisiensi teknik isolasi dan purifikasi DNA pada jambu mete. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 2(2), 151–160.
- Varma, A., Padh, H., & Srivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: an art or a science. *Biotechnology Journal*, 2(3), 386–392.

- Yi, S., Jin, W., Yuan, Y., & Fang, Y. (2018). An optimized CTAB method for genomic DNA extraction from freshly-picked pinnae of Fern, *Adiantum capillus-veneris* L. *Bio-protocol*, 8(13), e2906.
- Yulianti, E. (2006). Pengembangan teknik isolasi DNA tumbuhan menggunakan detergen komersial. *Seminar Nasional MIPA (Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA serta Peranannya dalam Peningkatan Keprofesionalan Pendidik dan Tenaga Kependidikan)* pada tanggal 1 Agustus 2006, 71–85, diselenggarakan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNY, Yogyakarta.