

Ekstraksi DNA Nibung (*Oncosperma tigillarum* (Jack) Ridl.) Menggunakan Beberapa Jenis Buffer Terhadap Kualitas Genomik DNA

IMAM MAHADI*, IRDA SAYUTI, NURSAL

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

Diterima: 23 April 2024 - Disetujui: 1 Oktober 2024
© 2024 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

The Nibung (*Oncosperma tigillarum* (Jack) Ridl.) is a plant that serves as the floral mascot of Riau and symbolizes the spirit of unity and brotherhood among its people. Genetic diversity research is essential for the conservation of this species, with DNA extraction being a critical initial step. This study compared three types of buffers: CTAB, Alkyl Benzene Sulfonate (ABS) surfactant detergent, and Sodium Laureth Sulfate (SLS) surfactant detergent. The aim of this research was to identify alternative buffers to replace CTAB and simplify the extraction of genomic DNA from Nibung. Parameters measured included the presence of DNA and DNA concentration, using electrophoresis and a nanodrop spectrophotometer. The results showed that clear genomic DNA bands were successfully obtained for 24 Nibung accessions, with only two accessions, Nibung2s and Nibung6s, showing smeared bands when using the SLS surfactant detergent buffer. The genomic DNA concentrations ranged from 526.2 to 3,829.2 ng/μl. These concentrations are suitable for use as DNA templates in further research. Thus, both ABS and SLS surfactant detergent buffers can be considered viable alternatives to CTAB for extracting genomic DNA from Nibung.

Key words: Buffer; DNA bands; DNA extraction; DNA Concentration; Extraction optimization.

PENDAHULUAN

Tumbuhan Nibung (*Oncosperma tigillarum* (Jack) Ridl.) merupakan tanaman yang menjadi maskot flora Riau dan dianggap oleh masyarakat Riau sebagai simbol semangat persaudaraan dan persatuan (Yulis & Isda, 2019). Nibung merupakan sejenis palem dan mayoritas tumbuh di sebagian besar wilayah Provinsi Riau. Tumbuhan ini juga hidup di berbagai daerah di Indonesia. Nibung biasanya tumbuh di sekitar pantai, seperti di kawasan pesisir pantai, rawa-rawa, dan tanah

gambut seperti di daerah Penipahan dan Bagan Siapi-api (Kabupaten Rohil), di Kecamatan Teluk Meranti dan Kuala Kampar (Kabupaten Pelalawan), di Sepahat dan Selat Baru (Kabupaten Bengkalis), di Kecamatan Sungai Apit (Kabupaten Siak), dan di Taman Nasional Bukit Barisan, Kabupaten Kampar (Maryanti, 2019).

Pohon Nibung bentuknya mirip pinang dan batang Nibung mampu hidup dalam jangka waktu yang lama yaitu ratusan tahun walaupun terendam di dalam air laut. Tanaman ini digunakan sebagai tiang pancang bangunan rumah masyarakat Riau khususnya di wilayah pesisir maupun di masyarakat tepian sungai. Tumbuhan Nibung batangnya memiliki banyak manfaat bagi masyarakat Riau, antara lain sebagai alat penangkapan ikan bagi nelayan, pembuatan

* Alamat korespondensi:

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Riau, Kampus Bina Widya Km 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru.
Email: imam.mahadi@lecturer.unri.ac.id

jembatan, rumah, kapal, dan dermaga (Kuni *et al.*, 2015).

Batang tumbuhan Nibung dapat dimanfaatkan sebagai lantai dan pipa air. Daun tumbuhan Nibung dimanfaatkan sebagai anyaman keranjang dan atap rumah. Bunga tumbuhan Nibung juga mampu memberikan aroma wangi pada beras. Kuncup bunga dan umbut tumbuhan Nibung bisa dijadikan sayur, kemudian buahnya juga bisa dijadikan pengganti pinang yaitu pendamping makan sirih. Duri tumbuhan Nibung biasa dikenal dengan sebutan pating digunakan untuk paku pembangunan sesaji sebagai persembahan ritual adat. Tiang-tiang "kelong" atau disebut juga "bagan" yang digunakan untuk memancing di laut juga terbuat dari pohon nibung yang tertanam di bawah laut (Desti & Mellisa, 2017).

Keberadaan tanaman nibung semakin langka di Riau akibat eksploitasi besar-besaran terhadap pembangunan perkebunan terutama sawit dan silvikultur seperti akasia dan sengon sehingga keberadaan tanaman ini semakin sukar di temukan akibat dari pembangunan tersebut. Salah satu kendala dalam upaya pelestarian tumbuhan nibung di Provinsi Riau adalah degradasi dan eksploitasi yang tidak bertanggung jawab terhadap habitat aslinya (Maryanti, 2019). Untuk mendukung upaya pelestarian tanaman ikon Provinsi Riau, yaitu melakukan penelitian pengembangan bibit Nibung dengan spesies tanaman dapat beradaptasi dan cepat tumbuh dan berkembang memanfaatkan potensial melalui bioteknologi tanaman. Oleh karena itu, sebagai tanaman ikon atau identitas Provinsi Riau, perlu dilakukan usaha proteksi terhadap kelangkaan tanaman nibung dengan cara *plant breeding* dengan memperbanyak kajian penganekeagaman genetik. Langkah awal adalah melakukan kajian keanekaragaman variasi genetik pada tanaman nibung. Pemanfaatan kajian genetik menggunakan *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) perlu mendapat kualitas DNA genomik secara baik, dapat digunakan dalam banyak kajian molekuler. Menurut Abubakar *et al.* (2021), penggunaan metode ekstraksi DNA yang tepat harus dengan melakukan ekstraksi DNA sebagai dasar

pengembangan bahan genetik tanaman. Selain itu, Ibrahim *et al.* (2023) menyatakan bahwa ekstraksi DNA penting dilakukan guna memperoleh kualitas DNA tinggi dan merupakan metode dasar yang harus terpenuhi pada kajian analisis molekuler.

Menurut Selvakumari *et al.* (2017) keberhasilan kegiatan ekstraksi DNA sangat ditentukan oleh jenis larutan buffer (larutan pelisis/penghancur) yang digunakan sebagai penglis terhadap permukaan dinding sel tumbuhan sebelum dilakukan ekstrak DNA. Saat melakukan ekstraksi DNA, kegiatan penglisian dinding sel tumbuhan serta pendegradasian DNA genom dari sitoplasma dan nukleus tanaman harus menggunakan buffer. Buffer berperan penting dalam proses pelarutan DNA, pelarutan metabolit sekunder, optimalisasi suhu dan waktu inkubasi.

Ekstraksi DNA tumbuhan harus pemanfaatan buffer yang berkualitas karena berperan dalam menentukan kuantitas maupun kualitas DNA yang dihasilkan (Buchori *et al.*, 2023). Ekstraksi DNA biasanya dilakukan dengan menggunakan buffer *Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide* (CTAB). Teknik ekstraksi DNA biasanya menggunakan Buffer CTAB. Meskipun buffer ini dapat mencapai konsentrasi DNA yang relatif tinggi dan tingkat kemurnian DNA yang sangat baik, akan tetapi harga buffer CTAB relatif mahal. Oleh karena itu, buffer alternatif seperti deterjen dapat digunakan. Deterjen merupakan salah satu produk sabun yang banyak digunakan masyarakat. Deterjen mengandung 10-30% surfaktan yaitu *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) dan *Alkyl Benzene Sulfonate* (ABS). Deterjen yang mengandung sekitar <20% bahan aktif surfaktan termasuk dalam kategori rendah, dan sabun serta deterjen yang mengandung sekitar >20% bahan aktif termasuk kategori tinggi (Yi *et al.*, 2018).

Menurut Mahadi *et al.* (2021) deterjen merupakan senyawa pelarut yang dapat digunakan sebagai buffer dalam melarutkan lemak, protein serta pengurai sesulosa pada sel tumbuhan. Surfaktan merupakan bahan aktif permukaan yang mengurangi tegangan permukaan dan mendorong kerusakan dinding

sel tumbuhan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan ekstraksi DNA tanaman nibung dengan menggunakan jenis senyawa buffer yang berbeda guna mendapatkan DNA genomik tanaman nibung yang berkualitas dan kuantitas yang memadai, murah dan mudah dilakukan. Penelitian ini bermanfaat bagi mahasiswa dan siswa sekolah pada praktik isolasi DNA khususnya terkait materi genetika. Lebih dari itu, sangat bermanfaat dalam aktivitas analisis DNA sebagai kajian genetik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan eksperimen yang telah dilaksanakan pada bulan September 2023 – Februari 2024. Tempat penelitian di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA dan Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP Universitas Riau.

Alat dan Bahan

Bahan penelitian ini menggunakan daun muda dari tanaman Nibung yang diambil dari berbagai lokasi sebagai Aksesori Nibung yang tumbuh di Provinsi Riau. Sebanyak 9 aksesori nibung tersebut adalah: sampel Nibung 1 (Muara sungai Rokan, Bagan Siapi-api. Kab. Rokan Hilir), Nibung 2 (Kawasan pantai Purnama, Kota Dumai), Nibung 3 (Arboretum Universitas Riau, Pekanbaru), Nibung 4 (Taman Nasional Bukit laBarisan, Salo Kab.Kampar), Nibung 5 (Kawasan wisata hutan mangrove, Suwai Rawa, Kab. Siak), Nibung 6 (Sungai Siak kecil, Pedada, Kab. Bengkalis), Nibung 7 (Kawansan hutan pantai, Selat Panjang. Kab. Meranti), Nibung 8 (Sungai Ara, Batu 8. Keritang, Kab. Indragiri Hilir) dan Nibung 9 (Kuala Kampar, Teluk Meranti, Kab. Pelalawan).

Bahan ekstraksi DNA nibung yang digunakan yaitu tiga jenis buffer: 1). Buffer CTAB (komposisi: 0,5M EDTA pH 8; 1M Tris HCl pH 8; 5M NaCl; 0,2% 14M β -ME; Aquabidestilata), kloroform (CIAA), isopropanol, TE (1M Tris-HCl pH 8,0 dan 0,5 M EDTA pH 8,0). 2). Buffer dari deterjen

komersial yang mengandung bahan aktif surfaktan *Alkyl Benzene Sulfonat* (ABS) Anti noda bahan aktif surfaktan 24%), 3). Buffer dari deterjen komersial yang mengandung bahan aktif surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS), anti noda bahan aktif surfaktan 18%). 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).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: gunting dan plastik, kertas koran, karton, silika gel. Alat untuk isolasi DNA: spatula, mortar, pestle, tisu, aluminium foil, tabung erlemeyer 50 ml, pipet mikro, tip mikro, rak tabung mikro timbangan analitik, *waterbath*, sentrifus (4000 rpm), *hot plate*, *stirrer*. Elektroforesis (Fisans Model FEC 360, *large horizontal Gel System*), *UV transluminator* (*wisew WUV-M20, Daihan Scientific*), cetakan gel agarose dan kamera (*Olympus SP-500 UZ*). Amplifikasi PCR dilakukan dengan mesin PCR (*Hercuwan Lab Systems*) mengacu pada Corkill & Rapley (2008).

Metode pengambilan sampel

Sampel daun untuk ekstraksi yaitu diambil daun yang baru membuka penuh dari pucuk tanaman atau tergolong masih muda, selanjutnya di gunting selebar 1-2 cm², kemudian dimasukkan pada plastik yang bersih. Untuk mencegah penguapan, sampel perlu diberi silika gel dan ditutup rapat.

Ekstraksi DNA

Metode ekstraksi DNA yang digunakan mengikut Doyle & Doyle (1991). Buffer standar yaitu Buffer CTAB. Detergen surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS) dan Detergen surfaktan *Alkil Benzene Sulfonat* (ABS) adalah sebagai perlakuan sebagai buffer alternatif. Setiap aksesori nibung sebanyak 1 g sampel diekstrak, Perlakuan buffer 1; CTAB, buffer2; Deterjen surfaktan *Alkil Benzene Sulfonat* (ABS) dan buffer 3; Deterjen surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS), masing-masing sampel sebanyak 3 ml, selanjutnya digerus menggunakan nitrogen cair.

Uji Kualitatif DNA

Teknik elektroforesis merupakan teknik yang digunakan untuk pengujian secara kualitatif DNA. Keberadaan pita (*band*) DNA yang jelas pada gel agarose menunjukkan DNA. Gel agarose dengan konsentrasi 1% pada tangki yang berisi buffer 1x TAE, voltase tegangan 100 volt selama 30 menit digunakan pada teknik elektroforesis. Selanjutnya diamati pada sinar UV menggunakan UV Transluminator (UVP, UK). Hasil pita DNA difoto menggunakan kamera *Olympus SP-500UZ* untuk menentukan hasil elektroforesis.

Purifikasi DNA

Purifikasi atau pemurnian *Deoxyribo nucleic acid* (DNA) dilaksanakan sebelum kuantitas DNA dihitung. Tujuannya adalah untuk menghidrolisis RNA yang ada di dalam larutan DNA. Dalam tube template DNA, sebanyak 2 μ l RNase (0,02 μ g/ μ l) dimasukkan dan dipanaskan selama 45 menit dengan suhu 37 °C. Selanjutnya ditambahkan fenol : kloroform : isoamil alkohol (25:24:1). Setelah itu, campuran larutan digoncang perlahan-lahan selama 15 menit. Kemudian, larutan disentrifugasi selama 10 menit pada 12.000 rpm, setelah mengendap larutan dipisahkan dengan supernatan. Supernatan dimasukkan ke dalam tube 1,5 mililiter. Larutkan dengan 50 μ l TE pada Templet DNA yang sudah kering,

selanjutnya diinkubasi dan simpan pelet DNA pada suhu -20 °C (Afshar-Mohammadian *et al.*, 2018).

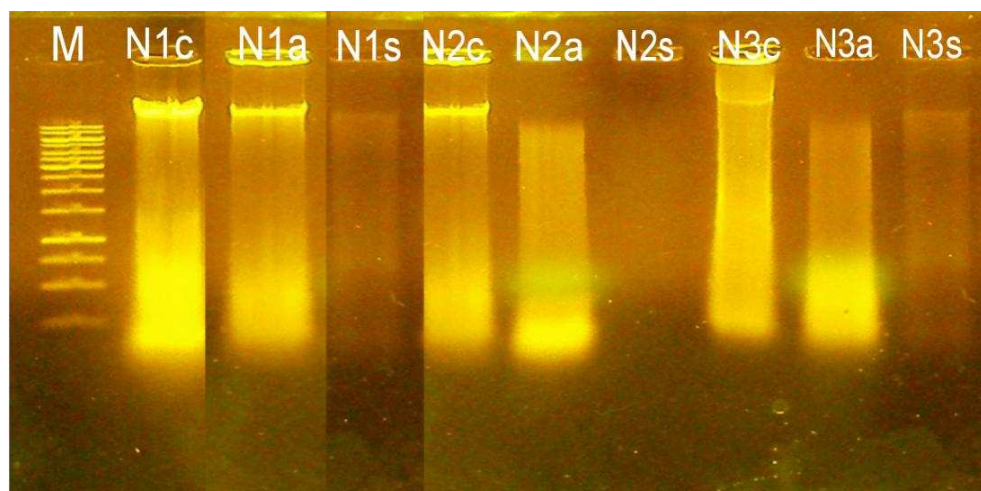
Uji kuantitatif DNA

Pengujian dilaksanakan menggunakan larutan templet DNA dengan alat nanodrop spektrofotometer (diproduksi oleh Thermo Scientific, UAS). Pelet DNA dilarutkan dan dilakukan pengukuran. Nilai absorbansi pada panjang gelombang yaitu 260 nm (λ 260) dan 280 nm (λ 280). Pengukuran kuantitatif DNA dilakukan menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989). 260/280 sebesar 1,8-2,0 dan satuan konsentrasi DNA adalah ng/ μ l merupakan nilai perbandingan DNA yang memiliki kemurnian baik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak DNA Genomik

Hasil isolasi DNA dari 9 aksesori nibung dengan perlakuan 1; buffer CTAB, perlakuan 2; buffer detergen yang terdapat surfaktan *Alkyl Benzene Sulfonate* (Deterjen ABS) serta perlakuan 3; buffer deterjen yang terdapat surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (Deterjen SLS) menghasilkan pita genomik DNA dengan kualitas yang berbeda-beda pada setiap perlakuan (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil ekstraksi DNA nibung dengan perlakuan buffer Cyab, ABS dan SLS. Ket.: M= marker 1Kb, N= Nibung, angka 1, 2, dan 3= nomor aksesori; c= buffer CTAB, a= buffer ABS, dan s= buffer SLS.

Uji Kualitas DNA

Hasil elektroforesis ekstraksi aksesi nibung dengan menggunakan larutan buffer yang berbeda berdasarkan perlakuan memperlihatkan tingkat kecerahan pita DNA yang dihasilkan berbeda-beda. Ada yang tampak jelas, ada yang buram atau kabur (*blur*), serta ada pita DNA yang tidak terlihat/tidak tampak (Tabel 1).

Hasil kualitas DNA pada setiap sampel aksesi nibung memiliki 3 perlakuan sehingga semuanya sebanyak 24. Semua sampel secara umum menampakkan pita DNA (Gambar 1), namun hasil rata-rata pita DNA yang sangat Sangat jelas hingga jelas terdapat pada perlakuan buffer CTAB, sedangkan pada perlakuan buffer Deterjen ABS menghasilkan rata-rata pita DNA Sangat jelas hingga agak buram. Sedangkan perlakuan Deterjen SLS menghasilkan pita jelas hingga sangat buram, lebih didominasi dengan hasil ekstraksi DNA yang buram.

Ketika ekstraksi DNA nibung dilakukan menggunakan buffer deterjen yang terdapat Deterjen Surfaktan SLS atau surfaktan *Sodium Laureth Sulphate* (SLS), pada N2s pita buram, N3, N4s, dan N7s pita agak buram, sedangkan N5s dan N6s pita sangat buram. Deterjen sabun cair dengan komposisi buffering yang lebih sederhana, dengan konsentrasi bahan aktif surfaktan SLS sebesar 18% dibandingkan dengan 24% (>20%) pada perlakuan buffering surfaktan ABS (20%), yang mana hasil tersebut kurang memuaskan. Menurut Yulianti (2006), deterjen dengan kandungan senyawa SLS adalah golongan surfaktan anionik, yang memiliki rantai karbon lurus serta mudah diuraikan oleh mikroorganisme maupun air. Selain itu, SLS tidak dapat mengikat magnesium dan kalsium, sehingga deterjen ini tidak dapat menginaktivasi enzim nuklease. Deterjen SLS yang juga sebagai sabun cair mandi mengandung *Cocamidopropyl betaine* (CAPB) merupakan surfaktan amfoterik sebagai pembersih pada produk kosmetik dan perawatan wajah (*skincare*). Hal ini menyebabkan kinerja lisis terhadap dinding sel tanaman pada saat penggerusan belum maksimal (Mahadi *et al.*, 2021).

Pada perlakuan buffer deterjen ABS hasil ekstraksi dalam isolasi DNA nibung adalah lebih baik, karena perlakuan buffer deterjen ABS adalah Golongan surfaktan anionik merupakan bahan pembersih yang kuat atau kuat dengan rantai atom karbon bercabang sehingga menyulitkan mikroorganisme untuk merusaknya. Menurut Emilia *et al.* (2020), senyawa deterjen dapat melisis dinding sel tanaman sehingga memudahkan terjadinya lisis. Sehingga perlakuan buffer deterjen ABS menunjukkan hasil ekstraksi yang lebih baik dalam isolasi DNA nibung dibandingkan deterjen sabun cair. Menurut Syafaruddin *et al.* (2011), ABS dapat meluruhkan ikatan polisakarida yang membentuk dinding sel tumbuhan, seperti lignin, selulosa, dan hemi selulosa dalam larutan ekstraksi DNA. Keberadaan polisakarida dapat mengganggu fungsi enzim polimerase, ligase, dan restriksi endonuklease, sehingga diperlukan bantuan dari senyawa deterjen seperti PVP (Enny *et al.*, 2023).

Berdasarkan penggunaannya, deterjen ABS seperti deterjen pencuci pakaian, peralatan dan kendaraan sedangkan deterjen SLS seperti sabun digunakan untuk mencuci piring. Namun demikian perlakuan buffer deterjen surfaktan SLS dalam kajian ini menunjukkan hasil yang bisa dimanfaatkan untuk kajian DNA meski belum semua aksesi mendapatkan hasilnya baik.

Pada kajian ekstraksi nibung semua sampel dikerjakan dalam kondisi segar sehingga semua sampel menunjukkan hasil meskipun tidak semuanya berkategori pita DNA yang sangat cerah atau cerah. Menurut Yi *et al.* (2018), daun tanaman yang digunakan adalah daun yang masih muda dan segar karena daun yang digunakan pada isolasi DNA akan memengaruhi kualitas dan kuantitas hasil ekstraksi DNA. Apabila sampel daun tidak segera diekstraksi dan dibiarkan terlalu lama, maka DNA akan terdegradasi dan terkontaminasi oleh DNA eksogen, seperti DNA bakteri maupun mikroorganisme lainnya. Selain itu perlu penyiapan bahan ekstraksi dengan baik agar komponen senyawa tertentu tidak terbentuk menjadi senyawa jadian. Kerja enzim bisa menyebabkan perubahan pada kandungan

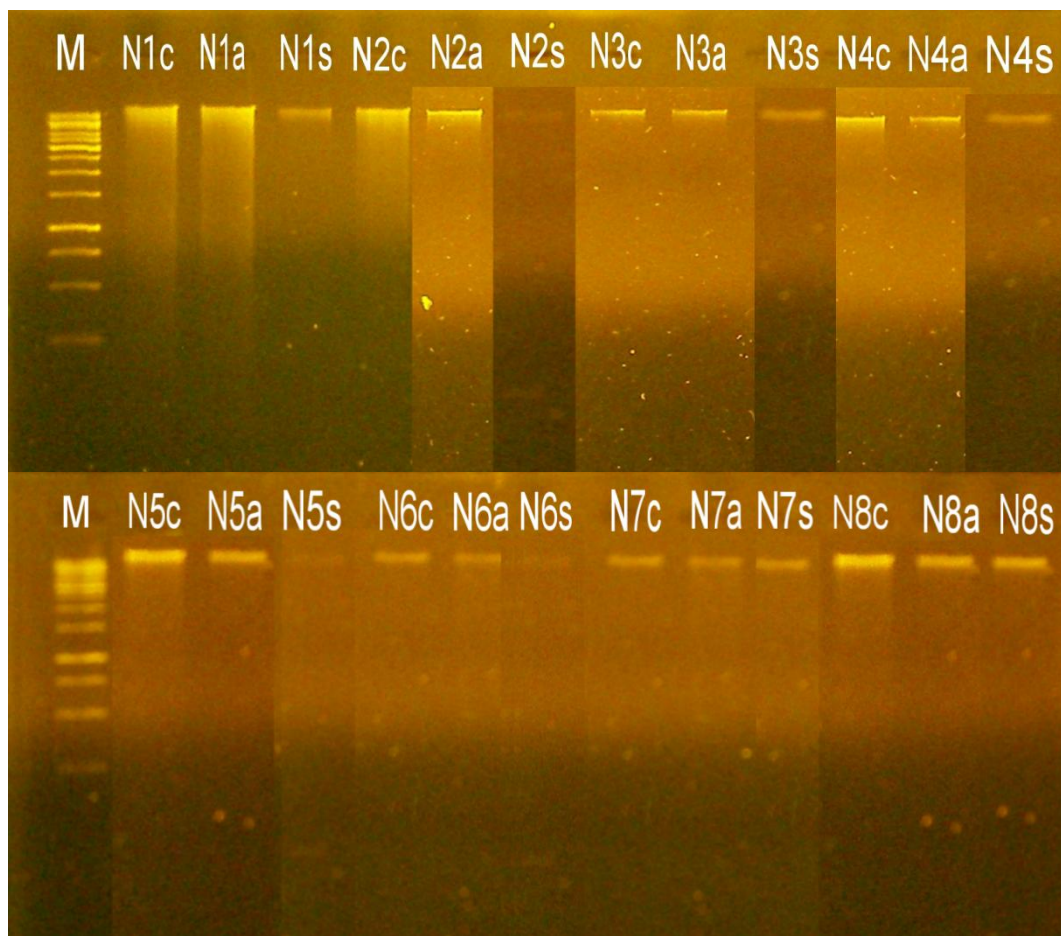
senyawa kimia pada sampel akibat terjadinya oksidasi. Enny *et al.* (2023) menyatakan PVP yang merupakan senyawa deterjen yang menghambat DNase pada isolasi DNA. Buffer CTAB dan PVP dapat melisiskan dinding sel, mengubah sifat protein, dan menghambat aktivitas enzim nuklease.

Purifikasi Genomik DNA

Purifikasi atau pemurnian DNA pada semua sampel hasil ekstraksi DNA genomik nibung sebanyak 24 aksesori sampel setelah dilakukan, hasilnya menunjukkan adanya variasi tingkat kecerahan pada pita DNA. Hasil purifikasi DNA genomik dapat diamati pada Gambar 2.

Semua sampel DNA genomik aksesori nibung sebanyak 24 sampel semuanya menampilkan pita DNA, walau pada hasil ekstraksi terlihat buram

atau kabur (*smear/blur*), namun setelah dilakukan purifikasi maka pita DNA sudah menjadi bersih dari segala senyawa-senyawa metabolik sekunder yang ada dalam larutan ekstraksi DNA, sehingga DNA murni kelihatan dengan jelas. Namun begitu, hasil ekstraksi DNA pada elektroforesis sebelum dilakukan purifikasi pitanya sangat buram atau buram maka hasil purifikasinya juga masih buram atau agak buram. Hal ini terjadi pada sampel N2s, N5s, N6s, sedangkan pada sampel lainnya menunjukkan pita DNA yang jelas hingga sangat jelas. Menurut Apriani (2017), hasil ekstraksi DNA sangat menentukan hasil kuantitas DNA yang akan diperoleh. Jika pita DNA tidak nampak pada hasil elektroforesis maka kemungkinan besar hasil purifikasi juga akan tidak kelihatan. Mahadi *et al.* (2021) menambahkan jika hasil ekstraksi tidak



Gambar 2. Visualisasi Pita DNA hasil purifikasi ekstraksi DNA tanaman Nibung berdasarkan jenis buffer. Ket.: M= marker 1Kb, N= Nibung, angka 1- 8 = nomor aksesori; c= buffer CTAB, a= buffer ABS, dan s= buffer SLS.

menampakkan pita DNA atau kabur, maka peluang kehadiran DNA murni saat purifikasi pita DNA yang dihasilkan akan sangat kabur hingga kabur.

Penggunaan perlakuan buffer deterjen SLS masih belum memberikan tingkat kecerahan pita

DNA yang baik, namun sudah dapat dilihat keberadaannya. Kurang jelas atau buramnya gambar pita DNA pada perlakuan buffer SLS ini disebabkan oleh kerasnya proses penggerusan yang dilakukan sehingga memaksa dinding sel pecahan keluarnya protoplasma dan inti sel yang

Tabel 1. Hasil kualitas keberadaan pita DNA pada sampel Nibung setelah elektroforesis.

Aksesi Nibung	Jenis buffer		
	CTAB	Deterjen ABS	Deterjen SLS
Nibung 1	Sangat jelas	Sangat jelas	Jelas
Nibung 2	Sangat jelas	Sangat jelas	Buram
Nibung 3	Jelas	Jelas	Agak buram
Nibung 4	Sangat jelas	Jelas	Agak buram
Nibung 5	Sangat jelas	Jelas	Sangat Buram
Nibung 6	Agak buram	Agak buram	Sangat buram
Nibung 7	Agak buram	Agak buram	Agak buram
Nibung 8	Sangat Jelas	Jelas	Jelas

Tabel 2. Hasil kuantitas ekstraksi DNA genomik tanaman Nibung menggunakan nanodrop spektrofotometer.

Kode sampel	Buffer	Konsentrasi DNA (ng/ μ l)	Kemurnian A260/A280
Nibung1c	CTAB	3517,4	1,98
Nibung1a	Deterjen ABS	3334,2	1,97
Nibung1s	Deterjen SLS	1618,5	1,85
Nibung2c	CTAB	3829,2	1,98
Nibung2a	Deterjen ABS	2917,7	1,96
Nibung2s	Deterjen SLS	526,2	1,46
Nibung3c	CTAB	3247,8	1,94
Nibung3a	Deterjen ABS	2912,1	1,96
Nibung3s	Deterjen SLS	1505,7	1,84
Nibung4c	CTAB	3178,2	1,94
Nibung4a	Deterjen ABS	3012,4	1,93
Nibung4s	Deterjen SLS	1478,6	1,80
Nibung5c	CTAB	3752,7	1,98
Nibung5a	Deterjen ABS	3203,4	1,94
Nibung5s	Deterjen SLS	452,8	1,46
Nibung6c	CTAB	2442,8	1,90
Nibung6a	Deterjen ABS	2247,2	1,89
Nibung6s	Deterjen SLS	542,3	1,46
Nibung7c	CTAB	2405,9	1,88
Nibung7a	Deterjen ABS	2186,4	1,87
Nibung7s	Deterjen SLS	2382,7	1,88
Nibung8c	CTAB	3773,2	1,97
Nibung8a	Deterjen ABS	3694,8	1,95
Nibung8s	Deterjen SLS	3741,2	1,93

membawa DNA menjadi rusak. Menurut Ibrahim *et al.*, (2023) bahwa Pita DNA yang tampak kabur atau buram adalah pita DNA yang pecah menjadi potongan-potongan kecil pada saat ekstraksi, akibat putusannya ikatan antar molekul DNA. Ikatan yang putus ini dapat menyebabkan gerakan berlebihan pada saat proses penggilingan atau pada saat larutan terbolak balik. Pada deterjen SLS yang mengandung surfaktan 18 % tergolong renah, ternyata belum mampu melarutkan senyawa polisakarida penyusun dinding sel tersebut.

Selain buffer yang sesuai, aktivitas menambahkan nitrogen cair saat proses penggerusan juga mendukung tingkat keberhasilan isolasi DNA, sehingga membantu proses pelisisan sel menjadi lebih efektif (Retnaningati, 2020). Selanjutnya menurut Kristianto *et al.* (2022) Nitrogen cair mampu membuat daun tanaman membeku dengan tidak merusak sel tanaman yang memudahkan pendegradasian. Hasil purifikasi DNA akan tervisualisasi menjadi pita yang sangat jelas, terang, tidak buram dan tebal, serta memiliki tingkat kemurnian dan konsentrasi yang tinggi (Ari *et al.*, 2019).

Pada perlakuan buffer dengan surfaktan ABS memberikan hasil yang baik setelah CTAB, meskipun CTAB merupakan perlakuan buffer standar untuk proses isolasi DNA, buffer alternatif yaitu deterjen surfaktan ABS telah menunjukkan hasil DNA yang baik dan konsisten dengan hasil pemurnian. Penggunaan buffer alternatif ini dapat mengurangi biaya dan memberikan hasil yang sangat baik karena mudah diperoleh dan murah. Berdasarkan hasil ekstraksi, kami sangat merekomendasikan ABS sebagai alternatif buffer pada saat mengisolasi DNA tanaman. Buffer deterjen ABS alternatif seperti buffer CTAB ini dapat melisis dinding sel dengan baik dan cepat, sehingga data yang diperoleh dari pemurnian ekstrak Nibung menggunakan elektroforesis menunjukkan pita DNA yang sangat jelas.

Disodium EDTA ditambahkan ke kedua buffer surfaktan untuk menggantikan natrium klorida, seperti EDTA dan NaCl dalam CTAB.

Oleh karena itu, dengan komposisi yang hampir sama dengan CTAB, dimungkinkan untuk menonaktifkan enzim DNase yang mendenaturasi DNA. Deterjen dengan kandungan surfaktan ABS kurang lebih 20% dapat meningkatkan penetrasi membran sel melalui ikatan yang dibentuk oleh deterjen, karena sisi hidrofobik deterjen bersentuhan dengan lemak dan protein membran sel sehingga menyebabkan terbentuknya lipid-protein kompleks dan senyawa deterjen (Yi *et al.*, 2018). Senyawa lipid dan protein mempunyai ujung hidrofilik dan hidrofobik. Deterjen juga memiliki sifat membentuk ikatan kimia. Deterjen ABS dan SLS dapat menghentikan aktivasi enzim nuklease dengan mengikat ion kalsium dan magnesium, yang diperlukan sebagai kofaktor enzim DNAase selama lisis dinding sel (Mahadi *et al.*, 2021).

Data Kuantitas Hasil Isolasi Genomik DNA

Data kuantitatif DNA Nibung berdasarkan pengujian spektrofotometer dengan gelombang 260 nm dan 280 nm. Pengujian menunjukkan bahwa nilai kemurnian DNA Nibung berkisar antara 1,46 - 1,98. Menurut Sambrook *et al.* (1989), nilai kemurnian DNA yang cocok digunakan sebagai cetakan DNA adalah nilai dengan rasio $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ sebesar 1,80-2,00. Pengaturan denaturasi dan annealing pada amplifikasi PCR juga dapat meningkatkan kualitas DNA yang dihasilkan (Hairuddin *et al.*, 2013; Kristianto *et al.*, 2019).

Hasil pengujian nilai kuantitas DNA dengan alat spektrofotometer pada gelombang 260 nm dan 280 nm didapatkan sebanyak 22 sampel yaitu sampel Nibung 1c, Nibung 1a, Nibung 1s, Nibung 2c, Nibung 2a, Nibung 3c, Nibung 3a, Nibung 3s, Nibung 4c, Nibung 4a, Nibung 4s, Nibung 5c, Nibung 5a, Nibung 5s, Nibung 6c, Nibung 6a, Nibung 7c, Nibung 7a, Nibung 7s, Nibung 8c, Nibung 8a dan Nibung 8s semuanya sudah memenuhi kriteria tingkat kemurnian templat DNA. Sedangkan 2 sampel yaitu Nibung 2s dan Nibung 6s yang memiliki tingkat kemurnian DNA yang kurang baik perbandingan 1,46 berada di bawah 1,80.

Pada Tabel 2, membuktikan bahwa konsentrasi ekstraksi DNA genomik sebanyak 22

sampel sama dengan kuantitas nilai gelombang spektrometer yaitu dengan konsentrasi DNA yaitu 1478,6-3752,7 ng/ μ l yang semuanya bersumber dari ketiga buffer yang digunakan, baik CTAB sebagai buffer standar maupun buffer deterjen surfaktan ABS dan deterjen SLS sebagai buffer perlakuan alternatif. Hasil ini sesuai dengan data hasil pita DNA yang dihasilkan pada purifikasi DNA (Gambar 2).

Ekstraksi nibung dengan menggunakan buffer Deterjen SLS mendapat 2 sampel yang tidak mencapai standar nilai gelombang spektrofotometer pada tingkat gelombang 260 dan 280 nm terdapat pada sampel Nibung 2s dan Nibung 6s. Keduanya menggunakan buffer alternatif Deterjen SLS dari golongan sabun cair yang memuat kosentrasi antara 526, 2 - 542,3 ng/ μ l, dengan tingkat kemurnian DNA di bawah 1,8.

Buffer deterjen surfaktan SLS diketahui mengandung 18% (<20%) surfaktan tergolong tidak tinggi, mengandung *Sodium Alkyl Benzene Sulphonate* dan *Sodium Loureth Sulphate* sebagai bahan pengurai noda dan lemak pada sabun. Surfaktan jenis ini tentu tidak begitu kuat dalam melisis dinding sel tanaman nibung yang mengandung polisakarida seperti, selulosa, hemiselulosa, kitin dan lignin terkhususnya pada aksesori nibung dari Dumai dan Bengkalis. Kedua wilayah ini memiliki kawasan yang sama. Kota Dumai sebelumnya masuk ke wilayah Kab. Bengkalis, setelah menjadi Kota Dumai, secara administrasi telah dilakukan pemekaran. Kawasan ini didominasi rawa dengan kandungan salinitas yang sedang. Kadungan salinitas dapat mempengaruhi terhadap pembentukan struktur organ tanaman, salah satunya daun. Tingginya unsur Na pada air laut yang mengandung garam, dapat mengikat Mg yang lebih tinggi, sehingga akan meningkatkan proses fotosintesis, maka akan mempengaruhi pembentukan dinding sel daun. Menurut Vega & Didik (2022), sel daun akan mejadi kuat karena ketersediaan polisakarida sebagai bahan pembentuk selulosa, lignin dan kitin, tingginya kandungan polisakarida dapat mempengaruhi proses lisis atau penerutan dinding sel akibat proses osmosis larutan buffer.

Ekstraksi nibung dengan penggunaan buffer CTAB dan deterjen surfaktan ABS memuat kandungan surfaktan 24% (>20%) yang tinggi yaitu *Alkyl Benzene Sulfonate* dan *Laureth Alkylbenzene Sulphate*, memiliki senyawa surfaktan yang mampu menggerus dan meluruhkan dinding sel pada tanaman nibung lebih kuat, sehingga hasil ekstraksi DNA semua aksesori nibung mendapatkan konsentrasi yang tinggi dan kemurnian yang baik sehingga dapat digunakan sebagai templat DNA pada kajian selanjutnya. Menurut Apriyani (2017) mengatakan bahwa deterjen dengan kandungan surfaktan *Laureth Alkylbenzene Sulphate* dan *Alkyl Benzene Sulfonate* dapat lebih kuat menguraikan senyawa polisakarida menjadi senyawa yang mudah larut. Selanjutnya Vega *et al.* (2022) menyatakan penggunaan CTAB dalam penghancuran dinding sel tanaman mampu lebih cepat dan efektif keseluruhan sehingga DNA dapat terpisahkan dan terkumpul lebih banyak.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ekstraksi DNA genomik 24 aksesori nibung berhasil mendapatkan keberadaan pita DNA yang jelas, hanya 2 aksesori yang *smear* yaitu aksesori Nibung 2s dan Nibung 6s yang menggunakan buffer Deterjen Surfaktan SLS. Konsentrasi DNA genomik yang diperoleh sebesar 526,2-3.829,2 ng/ μ l. Hasil konsentrasi yang didapat ini sudah dapat digunakan untuk sebagai template DNA pada penelitian selanjutnya. Dengan demikian penggunaan buffer deterjen deterjen ABS dan buffer deterjen deterjen SLS dapat digunakan sebagai buffer alternatif pengganti buffer CTAB dalam ekstraksi DNA genom tanaman Nibung.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, B.M., F.M. Salleh, A. Wagiran, and M. Abba. 2021. Comparative evaluation of different DNA extraction methods from *E. longifolia* herbal medicinal product. *eFood*. 2(1): 21-26.

- Buchori, A., F. Habibi, A. Mutia, R. Sri, T.U. Umi, dan Z. Yuniel. 2023. Komparasi metode ekstraksi DNA menggunakan daun padi: Review. *Agriculture and Biological Technology*. 1(1): 40-50.
- Afshar-Mohammadian, M., M.H. Rezadoost, and S.F. Fallah. 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., P. Simanjuntak, dan T. Suwarno. 2019. Pengaruh metoda ekstraksi simplisia mlti 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., and R. Rapley. 2008. The manipulation of nucleic acids basic tools and techniques. In: J. Walker (Ed.), *Molecular Biomethods Handbook*. Second Edition.
- Desti dan Mellisa. 2017. Profil morfologi tumbuhan nibung (*Oncosperma tigillarum*) dan pengembangannya untuk bahan aar. *Jurnal Bioterdidik: Wahana Ekspresi Ilmiah*. 5(7): 62-71.
- Retnaningati, D. 2020. Optimasi metode ekstraksi DNA pada melon (*Cucumis melo* L.) berdasarkan suhu, lama ikubasi, dan kondisi daun. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 5(2): 109-114.
- Doyle, J., and J. Doyle. 1991. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19(1): 11-15.
- Emilia, H. Essy, dan A. Ashabul. 2021. Optimalisasi metode ekstraksi DNA daun, kulit kayu dan kayu *Pinus merkusii* Jungh. *Et de Vriese. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 6(4): 766-778.
- Enny, R.S., T.T. Rerenstradika, G.D. Yuliana, Anggraheni, B. Irmanida, P. Amalia, N. Waras, R. Taopik, A. Rita, Chairunisa, H. Rikno, R. Nurhamidar, dan F. Hani. 2023. Efektivitas metode ekstraksi DNA pada daun segar dan kering dari tanaman obat. *Vegetalika*. 12(3): 211-227.
- Hairuddin, R., F. Palopo, U.C. dan T. Serealia. 2013. Isolasi DNA dan amplifikasi, (PCR) genom DNA kopi (*Coffea* sp) melalui proses elektroforesis gel. *Dinamika*. 4(1): 43-48.
- Ibrahimi, M., N. Brhadda, R. Ziri, M. Fokar, D. Iraqi, F. Gaboun, M. Labhilili, A. Habach, R. Meziani, J. Elfadile, R. Abdelwahd, and G. Diria. 2023. Analysis of genetic diversity and population structure of Moroccan date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using SSR and DAMD molecular markers. *J Genet Eng Biotechnol*. 21(1): 66.
- Kuni, B.E., G. Hardiansyah, dan Idham. 2015. Etnobotani masyarakat sku Dayak Kerabat di Desa Tapang Perodah Kecamatan Sekadau Hulu, Kabupaten Sekadau. *Jurnal Hutan Lestari*. 3(3): 383-400.
- Kristianto, N., S. Dani, I. Made T, dan P. Lestari. 2022. Ekstraksi DNA genomik: Tahap kritis dalam kegiatan analisis molekuler tanaman. *Jurnal AgroBiogen*. 18(1): 33-44.
- Kristianto, N., T.T. Rerenstradika, Reflinur, dan P. Lestari. 2019. Metode ekstraksi DNA tanaman tanpa pesipitasi eanol untuk kegiatan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 6(1): 28-39.
- Maryanti, A. 2019. Pengembangan modul berbasis riset anatomi batang nibung pada mata kuliah anatomi tumbuhan. *Jurnal Bioterdidik: Wahana Ekspresi Ilmiah*. 7(3): 98-104.
- Mahadi, I., Zulfarina, dan M. Anggrai. 2021. Penggunaan buffer alternatif untuk isolasi DNA genomik pada tanaman hutan. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*. 10(2): 117-130.
- Nugroho, K., R. T. Terryana, H. Rijzaani, dan P. Lestari. 2017. Metode ekstraksi DNA pada *Jatropha* spp. tanpa menggunakan nitrogen cair. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 22(4): 159-166.
- Nurkamila, U.S., dan M. Pharmawati. 2014. Ekstraksi DNA dari herbarium anggrek. *SIMBIOSIS, Journal of Biological Sciences*. 2(1): 135-146.
- Restu, M., M. Mukrimin, dan G. Gusmiaty. 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.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. In: J. Sambrook (Ed.), Cold Spring Harbor (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Selvakumari, E., J. Jenifer, S. Priyadharshini, and R. Vinodhini. 2017. Application of DNA fingerprinting for plant identification. *J Acad Ind Res*. 5(10): 149-151.
- Syafaruddin, E. Randriani, dan T.J. Santoso. 2011. Efektivitas dan eisiensi teknik isolasi dan purifikasi DNA pada jambu mete. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 2(2): 134-141.
- Vega, K.S., dan P.R. Didik. 2022. Review artikel: Metode ekstraksi DNA genom untuk tanaman tinggi kandungan polisakarida dan metabolit sekunder. *Agroteknika*. 5(2): 118-129.
- Yi, S., W. Jin, Y. Yuan, and Y. Fang. 2018. An optimized CTAB method for genomic DNA extraction from freshly-picked pinnae of fern, *Adiantum capillus-veneris* L. *Bio-Protocol*. 8(3): 2018. Doi: 10.21769/BioProtoc.2906
- 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) Yogyakarta, 1 Agustus, 72-85*. [https://eprints.uny.ac.id/11869/1/Makalah Evi Yulianti UNY](https://eprints.uny.ac.id/11869/1/Makalah%20Evi%20Yulianti%20UNY).
- Yulis, P.A.R., and M.N. Isda. 2019. Local wisdom of Riau mascot flora (*Oncosperma tigillarum* (Jack) Ridl.) in Baganbatu, Bengkalis District Riau Indonesia. *International Conference of CELSciTech (ICCELST_ST)* December 2019 92-95.