

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek merupakan tanaman dari golongan Orchidaceae dari suku tumbuhan berbunga dengan jenis yang banyak ditemukan. Orchidaceae sering ditemukan disemua daerah dengan keragaman jenis tersebar di daerah tropis dan subtropik (Wahyudiningsih *et al.*, 2017). Keragaman anggrek banyak ditemukan di setiap hutan Indonesia. Salah satu genus yang banyak dijumpai adalah *Phalaenopsis* yang tersebar di hutan Indonesia terutama di daerah Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi dan Maluku (Teoh, 2016; Tsai, 2011). Jenis genus *Phalaenopsis* yang memiliki persebaran di hutan Indonesia salah satunya adalah *Phalaenopsis amabilis*. *Phalaenopsis amabilis* yang telah ditetapkan sebagai “Bunga Nasional Indonesia”. Berdasarkan Keputusan Presiden No. 4 Tahun 1993 bahwa *P. amabilis* sebagai “Puspa Pesona Indonesia”. *Phalaenopsis amabilis* atau anggrek bulan memiliki karakteristik bunga berwarna putih, tangkai bunga kuat dan berbunga banyak sehingga banyak diminati masyarakat (Iswanto, 2001).

Populasi *Phalaenopsis amabilis* di Indonesia tumbuh secara alami dari habitat hutan. Setiap daerah yang terdapat *Phalaenopsis amabilis* memiliki ciri khas yang berbeda. Perbedaan ciri khas dari setiap daerah adalah terdapat pada ukuran bunga dan bentuk labellum (Rukmana, 2000). Meskipun demikian keragaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* di Indonesia belum banyak diketahui yang didukung dengan belum adanya penelitian tentang keragaman dan kekerabatan *Phalaenopsis amabilis*. Salah satu cara untuk mengetahui keragaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* dapat dilakukan penelitian secara molekuler. Hal ini dapat membantu dalam memberikan informasi tentang keragaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* sehingga data atau informasi tentang *Phalaenopsis amabilis* dapat diperoleh lebih komprehensif. Tahapan penelitian molekuler diawali dari isolasi DNA dari organisme tersebut (Pharmawati, 2009).

Isolasi DNA merupakan tahap yang penting untuk mengenali informasi genetik dari suatu organisme (Sundari, 2018). Isolasi DNA memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat keragaman genetik dan klasifikasi pada tingkat kekerabatan suatu spesies tanaman (Yulia & Russeani, 2008). Keberhasilan dalam isolasi DNA

adalah kualitas hasil DNA dengan kemurnian dan konsentrasi yang tinggi. Isolasi DNA untuk menghasilkan konsentrasi dan kemurnian yang tinggi pada setiap individu tanaman berbeda. Hal ini dipengaruhi oleh teknik isolasi yang digunakan, jenis sampel tanaman, jenis eksplan, umur eksplan, dan alat yang digunakan (Handayani, 2008). Sampel yang digunakan dalam isolasi DNA anggrek berasal dari seluruh bagian tanaman dengan jaringan segar, jaringan beku yang diberikan nitrogen cair, dan jaringan yang dikeringkan (Sozen, 2008 ; Cota-Sanchez *et al.*, 2006 ; Lambertini & Gustafsson, 2008). Salah satu bagian yang digunakan dalam isolasi DNA adalah menggunakan mahkota bunga anggrek *P. amabilis*. Kelebihan isolasi DNA menggunakan mahkota bunga anggrek *P. amabilis* diantaranya, tidak memiliki lendir, tidak berserat, dan mahkota bunga anggrek memiliki lapisan tipis. Penggunaan sampel pada isolasi DNA dengan ketebalan yang tipis, dan tidak kaku akan mempermudah dalam mendapatkan DNA (Ferniah, 2013). Meskipun demikian penggunaan sampel dari mahkota bunga pada proses isolasi DNA anggrek belum ada penelitian yang mendukung sehingga perlu dilakukan untuk mendapatkan kualitas DNA yang baik. Oleh karena itu, diperlukan optimasi pada isolasi mahkota bunga anggrek *Phalaenopsis amabilis* sehingga menghasilkan kuantitas dan kualitas DNA yang baik.

Optimasi dalam teknik isolasi DNA dapat menggunakan beberapa metode seperti, metode konvensional maupun menggunakan kit. Isolasi DNA dengan metode konvensional dapat dilakukan dengan buffer *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (Mulyani *et al.*, 2011). Metode CTAB memiliki kelebihan dengan keakuratan yang tinggi karena dapat memisahkan DNA dari senyawa polifenol dan polisakarida (Varela-Alvarez *et al.*, 2006). Isolasi DNA menggunakan CTAB terdapat tiga langkah yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA, dan pemurnian DNA yang diharapkan memperoleh DNA yang optimal (Surzcki, 2000). Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi menjadikan teknik isolasi DNA dapat dilakukan dengan menggunakan kit. Penggunaan kit pada isolasi DNA dapat meningkatkan efektifitas dan efisiensi kerja. Isolasi DNA menggunakan kit dapat menghasilkan kemurnian DNA yang baik karena kit isolasi DNA telah dioptimalkan oleh perusahaan yang telah memasarkannya (Jamsari, 2007).

DNA yang optimal dengan kualitas dan kuantitas yang tinggi dipengaruhi oleh metode optimasi isolasi DNA yang digunakan. Optimasi isolasi DNA diharapkan DNA dalam jumlah dan kualitas yang cukup baik, sehingga dapat digunakan untuk berbagai analisis molekuler. Hal ini diperkuat dari hasil penelitian Nurkamila & Phamawati (2014), menjelaskan ekstraksi DNA anggrek dengan menggunakan berbagai buffer ekstraksi menghasilkan kualitas DNA yang cukup baik. Pada penelitian ini, optimasi isolasi DNA dengan modifikasi berat sampel dan lama inkubasi. Hal ini merujuk pada Handayani (2008), jenis sampel anggrek yang berbeda menghasilkan nilai konsentrasi DNA yang berbeda, akan tetapi memberikan pengaruh yang sama terhadap tingkat kemurnian DNA hasil isolasi.

B. Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Metode apakah yang tepat untuk isolasi DNA dari mahkota bunga anggrek *P. amabilis*?
2. Bagaimana hasil konsentrasi dan kemurnian DNA mahkota bunga anggrek *P. amabilis* dengan menggunakan metode CTAB dan kit?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan metode yang tepat untuk isolasi DNA dari mahkota bunga anggrek *P. amabilis*
2. Membandingkan hasil konsentrasi dan kemurnian kedua metode dari isolasi DNA yang digunakan.