

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek merupakan tanaman hias yang bernilai estetika yang tinggi dan memiliki arti penting dalam perdagangan bunga karena bunganya yang indah dengan warna yang menarik. Anggrek dapat dijadikan sebagai tanaman pot maupun tanaman bunga potong. Anggrek memiliki sifat yang berbeda dengan tanaman lain. Salah satu jenis tanaman anggrek yang berasal dari Indonesia dan memiliki nilai ekonomi cukup tinggi adalah anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*). Anggrek bulan atau bisa disebut dengan *Phalaenopsis amabilis* memiliki keistimewaan yaitu (1) ditetapkan sebagai Puspa Pesona Indonesia. (2) *Ph. amabilis* seringkali dijadikan sebagai salah satu indukan, yang disilangkan dengan jenis anggrek bulan lainnya. (3) Memiliki bentuk bunga yang bervariasi dari setiap daerahnya, seperti : Jawa, Sulawesi, Sumatra, Papua dan Kalimantan (Hidayati, 2016). Untuk mengetahui jenis bentuk bunga dari *Ph. amabilis* dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Variasi bentuk bunga *Ph. amabilis* dari masing-masing daerah di Indonesia.

Phalaenopsis amabilis ini menduduki ranking atas dalam perdagangan anggrek, karena memiliki sosok bunga yang sangat indah bahkan bunganya tahan sampai kisaran 6 bulan. *Phalaenopsis amabilis* hanyalah satu dari sekian banyak anggrek endemik yang makin jarang ditemukan di habitat asli. Dengan semakin

berkurangnya anggrek di alam, maka upaya konservasi menjadi tidak terelakkan. Hal ini dikarena konversi penggunaan hutan dan juga pembakaran hutan yang menyebabkan perusakan habitat alami, serta ditambah dengan adanya pengambilan anggrek-anggrek tersebut untuk dibudidayakan diluar habitatnya, menyebabkan anggrek ini terancam keberadaannya (Indrasari *et al.*, 2020). Dengan adanya upaya konservasi, maka terdapat penyebaran *Phalaenopsis amabilis* secara merata di seluruh Indonesia.

Phalaenopsis amabilis memiliki fungsi sebagai *hidrokortison* yang memberikan perlindungan terhadap kulit. Salah satunya sebagai bahan baku obat. Penggunaan *Phalaenopsis amabilis* sebagai bahan baku obat berhubungan dengan senyawa kimia berupa metabolit sekunder yang dikandung, seperti terpen, alkaloid, pigmen, fenolik dan flavonoid. Beberapa senyawa metabolit sekunder diketahui dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan pada *Phalaenopsis amabilis* dapat bekerja untuk meremajakan atau mengatasi kulit, lebih sederhana menggunakan ekstrak anggrek menjadi produk perawatan kulit (Aditya, 2015).

Permasalahan yang ada adalah minimnya informasi dan penelitian tentang *Phalaenopsis amabilis*, sehingga perlu adanya upaya untuk melestarikan tanaman tersebut bagi dari segi fase fenotipe maupun genotipe. Adapun upaya pelestarian genotipe salah satunya dilakukan pemuliaan tanaman berupa pengisolasian DNA agar dapat menganalisis molekuler pada *Phalaenopsis amabilis*. Perkembangan ilmu bioteknologi melalui teknik-teknik molekuler, maka usaha untuk mendapatkan informasi genetik akan lebih mudah dilakukan dan akan memperoleh hasil yang lebih akurat. Analisis molekuler tumbuhan tergantung pada jumlah dan kemurnian sampel DNA (Pharmawati, 2009). Penyimpanan sampel pada suhu tertentu bertujuan agar sampel DNA yang telah diekstraksi dapat disimpan hingga waktu berminggu-minggu. Keberhasilan dalam isolasi DNA dapat dilihat dari hasil kualitas dan kemurnian yang tinggi.

Hal yang dapat diusahakan dengan cara mengoptimalkan DNA yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya berat sampel dan lama inkubasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Farhanah *et al.*, 2021), menunjukkan bahwa pengaruh berat sampel 0,10-0,20 gram menunjukkan masih adanya *smear* dibawah fragmen DNA. Hal ini menunjukkan bahwa DNA yang dihasilkan

terpotong-potong menjadi fragmen kecil sehingga Ketika dilakukan analisis elektroforesis pada gel agarose 0,8% terdapat banyak *smear*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Etty Handayani, 2008), Pada isolasi DNA dengan metode CTAB menggunakan sampel *protocorm-like bodies* (plb) anggrek *Ph.amabilis* hasil kultur in vitro umur 2 bulan. Terdapat pengaruh berat sampel 0,1 gram dan 0,3 gram menunjukkan masih adanya *smear* di bawah fragmen DNA. Hal ini menunjukkan bahwa DNA yang dihasilkan terpotong-potong menjadi fragmen kecil sehingga ketika dilakukan analisis elektroforesis pada gel Agarose 0,8 % terdapat banyak *smear*. Pada daun *seedling* 0,1 gram menunjukkan menunjukkan adanya intensitas warna yang tinggi pada bagian bawah agarose, walaupun DNA yang dihasilkan dari hasil spektrofotometri sudah cukup murni.

Menurut Langga *et al.*, (2012), pada perlakuan inkubasi pada suhu 65⁰C selama 30 menit memaksimalkan keluarnya DNA dari sel dan mendegradasi protein dari dinding sel secara optimal dibandingkan dengan perlakuan inkubasi lain sehingga menghasilkan tingkat kemurnian yang cukup tinggi yaitu 1,78. Selain itu, untuk mendapatkan keoptimalan dalam pengisolasian DNA, terdapat beberapa faktor yang akan mempengaruhi proses tersebut, yaitu: (1) teknik isolasi yang digunakan, (2) jenis tanaman, (3) jenis eksplan, (4) umur eksplan, (5) jumlah/berat ekplan yang diekstrak, (6) formulasi kemikalia, dan (7) alat yang digunakan.

Menurut (Fernih & Pujiyanto, 2013) penggunaan sampel dengan ketebalan yang tipis, tidak kaku, akan mempermudah untuk mendapatkan DNA, sehingga apabila menggunakan sampel yang memiliki ketebalan yang tinggi mengakibatkan sel-sel daun tidak lisis secara sempurna. Penggunaan sampel daun pada proses pegisolasian DNA. Isolasi DNA *Phalaenopsis amabilis* menggunakan *buffer* CTAB (*cethyltrimethyl ammonium bromide*) yang memiliki keakuratan tinggi karena mampu memisahkan DNA dari polisakarida dan senyawa polifenol. Keberhasilan metode ini bergantung pada komposisi *buffer* CTAB yang digunakan. Berdasarkan penelitian dari (Harahap, 2018), menunjukkan bahwa hasil isolasi DNA *Ph. amabilis* dengan menggunakan metode berbasis CTAB memiliki konsentrasi sebesar 378,02 µg/ml dan kemurnian DNA sebesar 1,6594-1,9354.

Pada penelitian ini menggunakan daun dewasa *Ph. amabilis* dikarenakan daun dewasa mengandung polisakarida dan polifenol yang dapat menghasilkan konsentrasi yang tinggi. Pada hasil konsentrasi DNA akan mempengaruhi hasil kualitas DNA. Salah satunya, agar hasil isolasi DNA berhasil atau cukup murni dengan melakukan 2 kali purifikasi. Purifikasi itu sendiri menggunakan larutan Chloroform Isoamil Alkohol yang berfungsi sebagai pemurnian DNA dari protein yaitu dengan cara mengendapkan protein (Mawardi & Simonapendi, 2016). Dengan diberikannya larutan Chloroform Isoamil Alkohol (CI) diharapkan hasil isolasi DNA berhasil atau cukup murni. Menurut hasil penelitian Utami *et al.*, (2012), mengatakan hasil elektroforesis pada gel agarose, terdapat beberapa sampel terdapat adanya pita tetapi *smear*. Hal ini menunjukkan bahwa isolasi DNA berhasil dilakukan, salah satunya dengan dilakukan pemberian larutan Chloroform Isoamil alkohol (CI) 2 kali pada saat purifikasi.

Bedasarkan uraian, penulis akan melakukan penelitian, yaitu “Pengaruh Lama Inkubasi dan Berat Sampel terhadap Kualitas Hasil Isolasi DNA Daun *Phalaenopsis amabilis*”.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka masalah yang timbul dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh berat sampel dan lama inkubasi dalam isolasi DNA Daun *Ph. amabilis* dengan 2 cara purifikasi?
2. Berapa berat sampel dan lama inkubasi yang paling optimal digunakan dalam isolasi DNA dengan 2 cara purifikasi agar diperoleh DNA dalam konsentrasi dan kemurnian yang tinggi?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari Penelitian ini yaitu :

1. Mengkaji pengaruh berat sampel dan lama inkubasi dalam isolasi DNA Daun *Phalaenopsis Amabilis* dengan 2 cara purifikasi.
2. Menentukan waktu berat sampel dan lama inkubasi yang paling optimal digunakan dalam isolasi DNA dengan 2 cara purifikasi agar diperoleh DNA dalam konsentrasi dan kemurnian yang tinggi.

