

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang mempunyai keanekaragaman hayati yang tinggi, menurut Indonesia National Geographic, (2019) menempati ranking ke 2 setelah Brazil di dunia. Salah satu kekayaan hayati yang dimiliki Indonesia adalah anggrek, Tanaman anggrek merupakan tanaman hias berbunga sekaligus komoditas hortikultura unggulan dengan nilai ekonomi tinggi karena keindahan bunganya, salah satu jenis tanaman anggrek yaitu *Phalaeonopsis amabilis* (L.) Blume atau yang lebih dikenal dengan anggrek bulan putih, bunga dari tanaman anggrek ini telah ditetapkan oleh pemerintah sebagai “Puspa Pesona Indonesia” pada tahun 1993. Lebih dari 4.000 spesies anggrek dapat ditemukan di Indonesia, terutama di Pulau Jawa, Kalimantan, Sumatera, dan Papua, terdiri atas 46-60 spesies, 22 jenis diantaranya tumbuh alami di Indonesia.

Keberadaan *Ph. amabilis* dapat tumbuh secara alami dari habitat hutan di Indonesia. Namun di habitat aslinya, keberadaan anggrek tersebut saat ini relatif sulit ditemukan. Menurut *List of Endangered Plant dalam Indonesia Plant Biodiversity*, hampir 70% lebih jenis anggrek spesies termasuk anggrek bulan telah termasuk kedalam spesies terancam. Anggrek bulan *Ph. amabilis* memiliki ciri khas yang berbeda beda pada setiap daerah. Perbedaan ini terdapat pada ciri khas ukuran bunga dan bentuk labellum (Rukmana, 2000). Namun tingkat keragaman anggrek *Ph. amabilis* di Indonesia belum banyak diketahui dan belum adanya penelitian tentang keragaman atau kekerabatan *Ph. amabilis*. Untuk mengetahui tingkat keragaman anggrek *Ph. amabilis* yaitu dapat dilakukan penelitian secara molekuler. Salah satu upaya untuk mengetahui tingkat keragaman anggrek *Ph. amabilis* dapat dilakukan penelitian secara molekuler. Hal ini dapat membantu dalam memberikan informasi tentang kedekatan kekerabatan *Ph. amabilis*, sehingga dapat diketahui jarak genetik untuk digunakan sebagai acuan dalam persilangan antar kekerabatan (Sundari, 2018). Oleh karena itu diperlukan informasi genetik, sehingga dapat mengetahui gen-gen yang berperan dalam pada pertumbuhan, perkembangan dan metabolisme tanaman (Arditti,

1992). Keakuratan informasi genetik yang tinggi dapat diusahakan dengan mengoptimalkan teknik isolasi DNA untuk mendukung keberhasilan DNA yang dihasilkan.

Tahapan Isolasi DNA merupakan langkah awal yang harus dikerjakan dalam analisa molekuler sebelum ketahap selanjutnya. Prinsip utama isolasi DNA dari jaringan adalah dengan mengekstraksi dan melisiskan jaringan tanaman sehingga didapatkan ekstrak sel yang terdiri dari sel –sel jaringan, DNA, dan kemudian ekstrak sel dipurifikasi sehingga dihasilkan pellet yang mengandung DNA total. Keberhasilan dalam isolasi DNA dapat dilihat dari hasil kualitas dan kuantitas DNA yang tinggi. Hal tersebut dapat diusahakan dengan cara mengoptimalkan DNA yang dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya berat sampel dan lama inkubasi. Handayani, (2008) menyatakan bahwa berat sampel yang digunakan dalam isolasi DNA pada tanaman anggrek dapat menghasilkan konsentrasi DNA yang berbeda nyata. Lama waktu inkubasi juga berpengaruh terhadap tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA. Jika terlalu lama diinkubasi maka dapat merusak DNA dan jika terlalu sebentar tidak dapat menghancurkan membran dan jaringan sel. Oleh karena itu, suhu dan waktu harus diatur dengan baik agar didapatkan DNA dengan konsentrasi yang sesuai. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Langga & Kuswinanti, (2012). Pada perlakuan inkubasi pada suhu 65C<sup>0</sup> 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. Sementara berdasarkan penelitian Syarifuddin, (2011) inkubasi pada suhu 65C<sup>0</sup> selama 1 jam mampu mengoptimalkan kerja buffer ekstraksi yang ditambahkan ke dalam sampel.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2008), Pada isolasi DNA dengan metode CTAB menggunakan sampel daun seedling anggrek menunjukkan terdapat pengaruh berat sampel 0,1 g dan 0,3 g 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 g menunjukkan menunjukkan adanya intensitas warna yang tinggi pada bagian bawah agarose, walaupun DNA yang dihasilkan dari hasil spektrofotometri sudah cukup murni.

Pada percobaan ini, isolasi DNA *Ph. amabilis* akan menggunakan metode isolasi *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) yang dimodifikasi. Metode ini banyak digunakan dalam isolasi DNA genom tanaman yang mengandung banyak polisakarida dan senyawa polifenol (Lumaret *et al*, 1998). Terdapat ada tiga langkah utama dalam ekstraksi DNA, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Surzycki, 2000). Protokol isolasi DNA pada saat ini sudah banyak dikembangkan namun protokol tersebut masih bersifat universal bagi tanaman atau hewan dan mikroorganisme. Beberapa protokol isolasi DNA dalam paket kit CTAB DNA *extraction* untuk tanaman sudah dilengkapi dengan bahan dan kolom pembersih polisakarida (Porebski, *et al*, 1997). Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi teknik isolasi DNA dapat menggunakan kit. Isolasi DNA menggunakan kit lebih praktis karena dalam satu paket kit terdapat larutan isolasi yang siap pakai sehingga menghemat waktu kerja namun harganya relatif lebih mahal (Sari, *et al*, 2014) Kit pemurnian DNA universal untuk keperluan isolasi dinilai lebih cepat, sederhana dan efektif dibandingkan dengan metode isolasi konvensional. Penggunaan akar tanaman anggrek *Ph. amabilis* dewasa sebagai sampel diharapkan mampu mengoptimalkan proses isolasi DNA, hal tersebut dikarenakan akar merupakan bagian tanaman meristematis sehingga sel sel yang terdapat pada akar mudah untuk diekstraksi sehingga dapat mendukung keberhasilan isolasi DNA.

Pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai metode isolasi DNA yang tepat dari akar *Ph. amabilis* sehingga diperoleh keakuratan informasi genom pada tanaman anggrek *Ph. amabilis* sebagai informasi genetik guna mendukung perkembangan bioteknologi tanaman.

## **B. Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini mengaju pada kerangka pemikiran dan latar belakang, yaitu:

Apakah berat sampel, lama inkubasi dan metode isolasi yang tepat untuk isolasi DNA akar *Ph. amabilis*?

## **C. Tujuan**

Menentukan berat sampel, lama inkubasi dan metode isolasi yang tepat untuk isolasi DNA dari sampel akar tanaman anggrek *Ph.amabilis*.