

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Isolasi DNA memainkan peranan penting dalam analisis molekuler sebagai langkah utama untuk melakukan penelitian di bidang biologi molekuler. DNA merupakan senyawa makro molekul yang terdiri dari polimer nukleotida. Setiap nukleotida memiliki tiga komponen utama, yaitu gugus phosphate, gula deoksi-ribosa dan basa nitrogen. DNA memiliki fungsi sebagai wadah informasi genetik dan pewarisan sifat/karakteristik dari suatu organisme. Pada tanaman, DNA terletak di dalam nukleus, kloroplas dan mitokondria.

Menurut Jamsari (2007) kegiatan isolasi DNA terdiri dari tiga tahapan, yaitu: 1) penghancuran dinding sel, 2) pemisahan protein, lipid dan senyawa metabolit sekunder lainnya dalam sel, 3) *precipitation* DNA (memanen DNA). Prosedur isolasi DNA yang baik harus memperhatikan beberapa aspek seperti kecepatan waktu yang diperlukan dalam proses isolasi DNA, sederhana, murah dan meminimalkan penggunaan senyawa kimia beracun (Oza *et al.*, 2008). Selain itu, DNA yang diisolasi dari suatu organisme tertentu harus memiliki kemurnian yang tinggi terhadap senyawa-senyawa kontaminan yang berada di dalam sel organisme tersebut (Stefunova *et al.*, 2013). Kontaminasi senyawa polisakarida, polifenol dan senyawa metabolit sekunder dalam sel tanaman merupakan masalah umum dalam ekstraksi DNA tanaman (Cheng *et al.*, 2003). Kontaminan tersebut sulit dipisahkan dari DNA sehingga mengganggu kinerja senyawa seperti enzim polimerase, ligase dan restriksi (Schlink dan Reski, 2002).

Metode *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (Doyle dan Doyle, 1987), Dellaporta (Dellaporta *et al.*, 1983) dan kit komersial isolasi DNA merupakan metode isolasi DNA yang paling sering digunakan dalam mengisolasi DNA tanaman. Ketiga metode tersebut memiliki efektivitas yang berbeda dalam mengisolasi DNA tanaman. Perbedaan efektivitas tersebut dipengaruhi antara lain oleh perbedaan komposisi dan senyawa kimia yang digunakan dari masing-masing metode isolasi DNA dan kandungan senyawa-senyawa kontaminan yang berasal dari tanaman yang akan diisolasi. Metode CTAB telah dilaporkan berhasil

mengisolasi DNA tanaman gambir (Ferita *et al.*, 2009), jagung (Irfan *et al.*, 2013) dan ganggang hijau (Liana, 2017). Metode Dellaporta berhasil mengisolasi DNA dari tanaman padi (Haryanti *et al.*, 2013) dan cabai (Jamsari dan Pedri, 2013).

Isolasi DNA tanaman berbasis metode CTAB dan Dellaporta pada umumnya menggunakan senyawa-senyawa kimia yang berbahaya. Senyawa berbahaya yang digunakan dalam metode isolasi DNA tersebut antara lain adalah *β -mercaptoethanol*, *phenol*, *chloroform*, *isoamylalcohol*. Secara umum, semua senyawa tersebut bersifat racun bagi tubuh manusia apabila terhirup secara sengaja ataupun tidak disengaja. Percikan dari senyawa tersebut juga dapat menyebabkan iritasi pada kulit (Watts *et al.*, 2004). Selain itu, isolasi DNA metode CTAB dan Dellaporta membutuhkan waktu yang cukup lama (lebih dari 2 jam) karena kedua metode tersebut melibatkan waktu inkubasi yang cukup lama di dalam *water bath*.

Seiring dengan perkembangan metode baru, prosedur isolasi DNA saat ini telah dikemas dalam bentuk Kit isolasi DNA. Penggunaan Kit isolasi DNA dapat mempermudah proses isolasi DNA manusia, hewan dan tanaman. Efisiensi waktu yang dibutuhkan dalam proses isolasi DNA cukup singkat dan memiliki kemurnian DNA yang cukup baik dikarenakan Kit isolasi DNA tersebut telah dioptimalkan oleh perusahaan yang memasarkan Kit isolasi DNA tersebut (Jamsari, 2007). Tetapi, kenyataannya pada beberapa kasus penggunaan Kit isolasi DNA terkadang tidak menghasilkan produk DNA. Kasus ini lebih sering ditemukan pada kegiatan isolasi DNA tanaman. Isolasi DNA tanaman memang lebih sulit jika dibandingkan dengan isolasi DNA manusia dan hewan. Hal ini dikarenakan tanaman memiliki dinding sel yang kaku sehingga membuat jaringan tanaman lebih keras dibandingkan dengan jaringan manusia dan hewan (Manen *et al.*, 2005). Selain memiliki dinding sel yang keras, tanaman juga memiliki berbagai senyawa lipid, protein, pigmen dan senyawa-senyawa hasil produksi metabolit sekunder seperti polisakarida dan polifenol tergantung pada spesies tanaman yang akan diisolasi. Senyawa-senyawa tersebut dianggap dapat menghambat proses amplifikasi DNA (Varma *et al.*, 2007).

Jahan *et al.*, (2015) melaporkan penggunaan senyawa *potassium phosphate* untuk mengisolasi DNA bakteri gram negatif. Kegiatan tersebut berhasil

menghemat waktu sebanyak 30 menit dibandingkan dengan metode sebelumnya. Qamar *et al.*, (2017) telah melaporkan bahwa penggunaan senyawa *potassium phosphate* telah berhasil mengisolasi DNA dari darah manusia. Kegiatan tersebut berhasil menghemat waktu sebanyak 1 jam jika dibandingkan dengan metode sebelumnya. Pada penelitian tersebut kemampuan *potassium phosphate* berfungsi dalam proses lisis dikarenakan mampu menghancurkan membran sel dari bakteri dan sel darah merah. Komponen *buffer* lisis *potassium phosphate* lebih sederhana dan aman dari senyawa kimia berbahaya sehingga diharapkan senyawa *potassium phosphate* tersebut bisa dijadikan sebagai alternatif dalam proses isolasi DNA. Namun, pada saat ini penggunaan *buffer potassium phosphate* masih belum dilaporkan untuk mengisolasi DNA tanaman. Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian dengan judul **“STUDI METODE ISOLASI DNA BERBASIS *BUFFER POTASSIUM PHOSPHATE* (KH_2PO_4) UNTUK TANAMAN CABAI”**.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari kemampuan *buffer potassium phosphate* dalam mengisolasi DNA tanaman cabai.

C. Manfaat Penelitian

Memberikan alternatif metode isolasi DNA tanaman cabai yang lebih murah, sederhana dan cepat.