

agr UMY

JURNAL ILMU-ILMU PERTANIAN

ISSN : 0854-4026

Respon Tanaman Padi Varietas Merah-Putih Dengan Berbagai Dosis Pupuk Organik Cair Di Tanah Regosol
□ Bambang Heri Isnawan

Karakteristik Kandungan Gizi Beras Merah Putih (*Oryza Sativa, L.*) Pada Berbagai Jenis Tanah
□ Sukuriyati Susilo Dewi

Keragaan Industri Emping Melinjo Di Kecamatan Kasihan Kabupaten Bantul
□ Eni Istiyanti

Optimasi Macam Dan Berat Eksplan Untuk Isolasi DNA Angrek *Phalaenopsis Amabilis, L. (Bl.)*
□ Etty Handayani

Motivasi Konsumen Minuman Didah Buaya Siap Saji Di Kota Pontianak
□ Diah Rina K dan Susanawati

Persepsi Masyarakat Terhadap Pemberitaan Penggunaan Formalin Dalam Produk Pangan Olahan Di Daerah Istimewa Yogyakarta
□ Siti Yusi Rusimah dan Widodo

Vol. XVII, No. 1, Juni 2008

Created with

 nitroPDF professional

download the free trial online at nitropdf.com/professional

REDAKSI

Gunawan Budiyo

Lilik Utari

Siti Yusi Rusimah

Lestari Rahayu

Triyono

Eni Istiyanti

Diterbitkan oleh :

Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Alamat : Jl. Lingkar Selatan, Tamantirto, Kasihan Bantul Yogyakarta 55183

Telp. (0274) 387656 (hunting) Fax. (0274) 387646

e-mail : goenb@umy.ac.id

AgrUMY merupakan jurnal ilmiah yang diterbitkan dua kali setahun sebagai media komunikasi guna memberikan informasi hasil penelitian dan studi pustaka bidang pertanian.

Redaksi menerima naskah baik berupa hasil penelitian maupun studi pustaka yang diketik komputer MS-Word dengan jarak 1,5 spasi dan panjang tulisan antara 10-12 halaman kuarto, tebal dan gambar menjadi bagian tidak terpisahkan dari naskah dengan jarak 1 spasi tanpa garis vertikal.

Naskah disampaikan dalam bentuk disket dan hasil cetakan (print-out)
Aturan lebih rinci dapat disimak dihalaman terakhir jurnal ini.

DAFTAR ISI

Respon Tanaman Padi Varietas Merah-Putih Dengan Berbagai Dosis Pupuk Organik Cair Di Tanah Regosol

□ Bambang Heri Isnawan..... 1 - 9

Karakteristik Kandungan Gizi Beras *Merah Putih (Oryza Sativa, L)* Pada Berbagai Jenis Tanah

□ Sukuriyati Susilo Dewi..... 10 - 18

Keragaan Industri Emping Melinjo Di Kecamatan Kasihan Kabupaten Bantul

□ Eni Istiyanti..... 19 - 27

Optimasi Macam Dan Berat Eksplan Untuk Isolasi DNA Angrek *Phalaenopsis Amabilis, L. (Bl.)*

□ Etty Handayani..... 28 - 36

Motivasi Konsumen Minuman Lidah Buaya Siap Saji Di Kota Pontianak

□ Diah Rina K dan Susanawati..... 37 - 46

Persepsi Masyarakat Terhadap Pemberitaan Penggunaan Formalin Dalam Produk Pangan Olahan Di Daerah Istimewa Yogyakarta

□ Siti Yusi Rusimah dan Widodo..... 47 - 58

INDEKS..... 59

OPTIMASI MACAM DAN BERAT EKSPLAN UNTUK ISOLASI DNA ANGGREK *Phalaenopsis amabilis*, L. (Bl.)

*Optimization of explant variety and weight in the DNA isolation
of orchid Phalaenopsis amabilis, L. (Bl.)*

Etty Handayani

Program Studi Agroteknologi
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Jl. Lingkar Selatan, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta

ABSTRACT

The research was conducted to understand the best explant variety and weight in the DNA isolation and purification of orchid Phalaenopsis amabilis. The experiment used factorial design, and it was arranged in 4 x 3 Completely Randomized Design with five replications. First factor was explant variety, i.e. protocorm like bodies, seedling leaves, seedling roots, and planlet. Second factor was explant weight, i.e. 0.1 g, 0.3 g, and 0.5 g. DNA isolation and purification was performed to get DNA orchid in high concentration and purity. The result of DNA isolation and purification was then analysed by spectrophotometer and agarose gel electrophoresis method. The result demonstrated that orchid DNA had a purity level of 1,6594 – 1,9354. In addition, it also showed that DNA isolation used protocorm like bodies in weight 0,5 g gave the highest concentration of DNA.

Keywords: DNA isolation dan purification, Phalaenopsis amabilis

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan bunga anggrek alam yang indah dan memiliki daya jual yang tinggi. Salah satu anggrek alam tersebut yaitu *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. atau lebih dikenal dengan sebutan anggrek bulan putih. Bunga dari tanaman anggrek ini telah ditetapkan oleh pemerintah sebagai puspa pesona Indonesia pada tahun 1992. Anggrek *Ph. amabilis* sangat diminati masyarakat karena bunganya

yang indah dengan warna putih bersih dan tahan lama. Selain itu anggrek *Ph. amabilis* mudah dalam pemeliharaan dan sering dijadikan sebagai induk silangan untuk menghasilkan anggrek-anggrek hibrid baru. Walaupun demikian, bunga-bunga anggrek yang dihasilkan selama ini belum dapat dipastikan kualitasnya, belum mampu memenuhi permintaan permintaan pasar dan belum mampu bersaing dengan anggrek-anggrek dari negara lain. Oleh karena itu perlu

dilakukan upaya pemuliaan pada tanaman anggrek *Ph. amabilis* untuk menghasilkan tanaman anggrek yang berkualitas tinggi. (Anonim 1976; Arditti 1992).

Upaya pemuliaan tanaman untuk menghasilkan anggrek yang berkualitas dapat dikembangkan melalui rekayasa genetika, yaitu suatu usaha untuk merubah konstruksi gen pada tingkat molekuler dengan melalui DNA rekombinan (Stansfield et al. 1998; Hartiko 1992). Dalam rekayasa genetika, diperlukan informasi tentang pemetaan genetik pada pita DNA, sehingga dapat diketahui gen-gen yang berperan pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemetaan genetik tersebut sangat dibutuhkan dalam usaha pemuliaan tanaman untuk mengetahui gen-gen yang terdapat dalam genom anggrek yang berperan dalam proses metabolisme (Nasir 2002). Dalam pemetaan genetik, diperlukan DNA dalam konsentrasi dan kemurnian yang tinggi agar diperoleh tingkat keakuratan yang tinggi. Hal ini dapat diusahakan dengan cara mengoptimisasi teknik isolasi DNA. Isolasi DNA untuk mendapatkan konsentrasi dan kemurnian DNA yang tinggi pada masing-masing tanaman berbeda satu sama lain. Hal tersebut dipengaruhi oleh: (1) teknik isolasi yang digunakan, (2) Jenis tanaman, (3) jenis eksplan, (4) umur eksplan, (5) jumlah eksplan yang diekstrak, (6) formulasi kemikalia, dan (7) alat yang digunakan.

Informasi genetik tanaman anggrek *Ph amabilis* masih sangat sedikit karena penelitian-penelitian molekuler pada tanaman anggrek *Ph amabilis* belum banyak dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian-penelitian molekuler pada tanaman anggrek *Ph amabilis*, untuk memberikan informasi

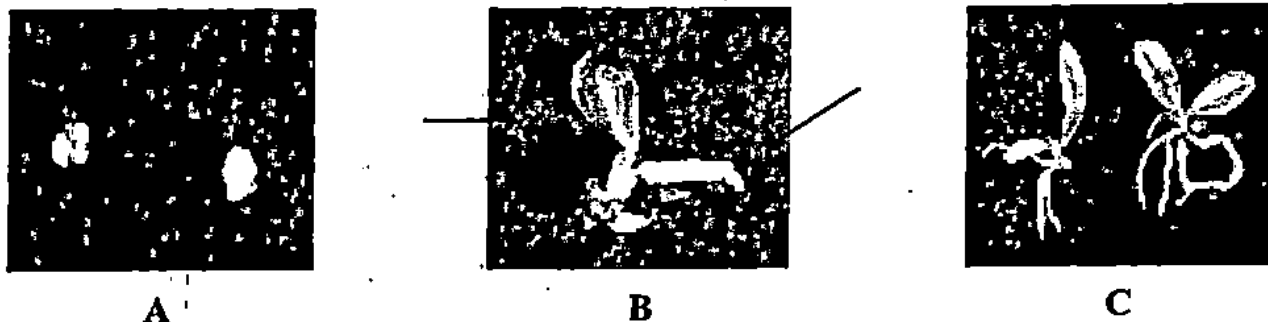
genetik yang akan sangat bermanfaat bagi perkembangan bioteknologi tanaman anggrek. Langkah awal yang dapat dilakukan yaitu dengan menentukan teknik isolasi DNA yang tepat untuk mendapatkan DNA dalam konsentrasi dan kemurnian yang tinggi.

Tujuan penelitian ini yaitu: (1) mengetahui adanya interaksi antara macam dan berat eksplan dalam isolasi DNA anggrek *Ph. amabilis* dan (2) mengetahui macam dan berat eksplan yang paling tepat digunakan dalam isolasi DNA agar diperoleh DNA dalam konsentrasi dan kemurnian yang tinggi.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar tentang isolasi DNA genom tanaman anggrek *Ph. amabilis* untuk mendapatkan DNA dengan konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk pengembangan bioteknologi tanaman anggrek *Ph. amabilis*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, meliputi: Bahan eksplan yang meliputi: *protocorm-like bodies* (plb) anggrek *Ph. amabilis* hasil kultur in vitro umur 2 bulan, akar *seedling Ph. amabilis* umur 6 bulan, daun *seedling* umur 6 bulan, dan daun planlet umur 9 bulan. Bahan kemikalia untuk isolasi dan purifikasi DNA, meliputi: CTAB, PVP, buffer Tris-Cl, EDTA, NaCl, kloroform, isopropanol, ethanol 70%, Tris-Cl EDTA (TE). FKI (fenol-kloroform-isopropanol), Na-asetat, ethanol absolut. Bahan untuk deteksi dan pengukuran konsentrasi DNA, meliputi: Agarosa, squadest steril, TE, loading DNA, ethidium bromida dan marker λ styl.



Gambar 3. Eksplan *Ph. amabilis* untuk isolasi DNA. (A) plb umur 2 bulan, (B) seedling umur 6 bulan (daun dan akar ditunjuk anak panah), (C) planlet umur 9 bulan.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, terdiri atas: *Glassware*, timbangan analitik, tabung 1,5 ml (eppendorf), *micropestle* (alat penggerus), inkubator, *shaker*, *waterbath*, *mikrosentrifuge*, mikropipet + tip, spektrofotometer, *microwave*, alat untuk elektroforesis, *UV-illuminator*, kamera digital, dan alat tulis.

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental di laboratorium dengan rancangan faktorial 4 x 3 yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dicobakan yaitu menggunakan 4 macam eksplan, meliputi: plb (*protocorm like bodies*) umur 2 bulan, daun *seedling* umur 6 bulan, akar *seedling* umur 6 bulan dan daun planlet umur 9 bulan. Masing-masing perlakuan dikombinasikan dengan 3 aras berat eksplan, yang meliputi 0,1 mg; 0,3 mg dan 0,5 mg, sehingga terdapat 12 kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Pelaksanaan Penelitian

Isolasi DNA total anggrek *Ph. amabilis*. Bahan tanaman yang berupa plb, daun & akar *seedling* muda, dan daun planlet masing masing ditimbang, dengan variasi berat dari 0,1g; 0,3g dan 0,5g. kemudian dimasukkan dalam tabung eppendorf yang berisi larutan

CTAB sebanyak 100µl dan dilakukan penggerusan dengan *micropestle* yang telah didinginkan dalam *freezer*. Setelah itu ditambah 400µl CTAB kedalam tabung dan diinkubasi pada 55-60°C selama 30 menit; selanjutnya ditambahkan 500µl kloroform. Kemudian tabung digoyang selama 30 menit dan disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm dengan *mikrosentrifuge*. Supernatan diambil dengan mikropipet dan dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Kemudian kedalam tabung ditambahkan 400µl isopropanol dan didiamkan dalam suhu kamar selama 10 menit. Tabung yang berisi larutan DNA dan isopropanol disentrifugasi lagi selama 10 menit pada kecepatan 5000 rpm. Setelah itu akan terlihat endapan DNA berwarna putih didasar tabung serta larutan yang bening (supernatan). Supernatan lalu dibuang dan endapan DNA dicuci menggunakan alkohol 70%. Endapan DNA yang tertinggal dalam tabung dikeringkan, kemudian endapan DNA dilarutkan dengan TE 50µl dan disimpan pada suhu 4°C.

Purifikasi DNA. Larutan DNA hasil isolasi sebanyak 50 µl disiapkan, kemudian ke dalam tabung eppendorf ditambahkan TE sebanyak 50µl dan dicampur secara merata (volume total: 100 µl) kemudian diinkubasi pada suhu 55-60°C. Setela

FKI sebanyak 100µl (Perbandingan 1:1), digoyang selama 15 menit pada 100-120 rpm, dan disentrifuge 10.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya supernatan diambil dengan mikropipet dan dipindah pada tabung baru. Pada tabung baru, supernatan ditambah ammonium asetat 5M sebanyak 10 % dari jumlah supernatan yang diambil, dan ditambah ethanol absolut dingin sebanyak 3 kali volume keseluruhan. Kemudian disimpan dalam freezer selama 15 menit. Setelah itu larutan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Kemudian akan diperoleh supernatan dan endapan (pellet) DNA. Supernatan dibuang dan endapan DNA dicuci dengan ethanol 70%. Endapan DNA dikeringkan kemudian dilarutkan dalam TE 50µl dan disimpan pada suhu 4°C.

Analisis hasil isolasi DNA. Hasil isolasi DNA selanjutnya di analisis dengan spektrofotometri dan elektroforetik untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh.

Spektrofotometri

Larutan DNA yang sudah dipurifikasi sebanyak 2 µl diencerkan sebanyak 50 kali dengan akuades steril kemudian dimasukkan dalam kuvet dan dibaca optikal densitinya (OD) pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dihitung berdasarkan hasil OD tersebut.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi DNA} &= \text{OD } \lambda_{260} \times 50 \times \text{pengenceran } (\mu\text{g/ml}) \\ &= \text{OD } \lambda_{260} \times 50 \times 50 (\mu\text{g/ml}) \end{aligned}$$

$$\text{Kemurnian DNA} = \frac{\text{OD } \lambda_{260}}{\text{OD } \lambda_{280}}$$

Gel elektroforesis

Agarose sebanyak 0,7 g dilarutkan dalam buffer TAE (1X) dan dipanaskan dalam microwave selama ± 2 menit. Selanjutnya didinginkan sebentar untuk menghilangkan uap panasnya dan ditambah dengan ethidium bromida 10µl/ml, kemudian dituang dalam cetakan elektroforesis. Setelah padat, gel direndam dalam tabung elektroforesis yang berisi buffer TAE (1X). Ke dalam masing-masing well (sumuran) dimasukkan sampel DNA sebanyak 5µl dan pada salah satu well dimasukkan marker DNA λStyl. Elektroforesis dijalankan dengan menggunakan voltase 80 volt selama ± 20 menit. DNA akan terpisah sesuai dengan ukuran molekulnya sehingga dengan menggunakan lampu UV dapat dianalisis pita DNA yang tampak dengan cara membandingkan dengan marker DNA λStyl.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Teknik isolasi DNA anggrek menggunakan metode CTAB yang merupakan modifikasi metode Murray & Thompson (1980), yaitu dengan menggunakan larutan CTAB 3%. Purifikasi hasil isolasi DNA menggunakan FKIAA (fenol-Kloroform-Isoamil Alkohol), dimana larutan tersebut dapat memisahkan lebih lanjut antara DNA dan fraksi-fraksi

lainnya, sehingga akan didapatkan DNA yang lebih murni. Hasil isolasi dan purifikasi tersebut selanjutnya dilakukan analisis dengan metode spektrofotometri dan elektroforetik.

Hasil isolasi DNA *Ph. amabilis* pada beberapa macam dan berat eksplan dengan spektrofotometri.

Hasil isolasi DNA dengan metode spektrofotometri meliputi konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA yang diperoleh dari isolasi DNA pada beberapa macam dan berat eksplan *Ph. amabilis* (lihat metode penelitian). DNA diisolasi dari plb (umur 2 bulan), akar seedling (umur 6 bulan), daun seedling (umur 6 bulan) dan daun planlet (umur 9 bulan). Konsentrasi DNA *Ph. amabilis* hasil isolasi dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwa terdapat interaksi antara macam dan berat eksplan terhadap konsentrasi DNA yang didapatkan. Hal tersebut menunjukkan bahwa dalam isolasi DNA genom anggrek *Ph. amabilis*, konsentrasi DNA sangat dipengaruhi oleh macam dan berat eksplan yang digunakan dalam isolasi DNA. Interaksi tersebut ditunjukkan oleh hasil isolasi DNA pada eksplan plb (umur 2 bulan) dengan berat 0,5 g yang memberikan hasil konsentrasi DNA yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 378,02 µg/µl. Sementara itu, isolasi DNA yang diperoleh dari eksplan akar seedling dengan berbagai aras berat eksplan menunjukkan konsentrasi yang nyata lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya berkisar 22,70 µg/µl – 39,52 µg/µl.

Plb (*protocorm like-bodies*) yang digunakan dalam isolasi DNA merupakan kecambah invitro anggrek *Ph. amabilis* yang berumur 2 bulan (8 minggu) sejak

biji anggrek diinokulasikan secara in vitro. Plb umur 8 minggu merupakan tahapan dimana sel-sel penyusunnya sedang aktif membelah untuk membentuk tunas (meristem ujung batang). Yu *et al.* (2000) mengemukakan bahwa meristem ujung batang pada anggrek *Dendrobium* Madame Thong-In terbentuk pada plb umur 6-12 minggu. Laux dan Jurgens (1997) melaporkan bahwa meristem ujung batang merupakan sebagai kumpulan sel-sel yang aktif membelah. Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa pada plb umur 2 bulan kemungkinan terjadi proses replikasi dan sintesis DNA dalam jumlah besar pada awal perkecambahan, sehingga konsentrasi DNA pada plb dengan berat 0,5 g menunjukkan konsentrasi DNA yang paling tinggi.

Tingkat kemurnian DNA hasil isolasi Rerata tingkat kemurnian DNA hasil isolasi pada beberapa berat dan macam eksplan *Ph. amabilis* tercantum pada Tabel 2. Berdasarkan tabel 2, dapat diketahui bahwa tidak terdapat interaksi antara berat dan macam eksplan terhadap tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan dari purifikasi DNA anggrek *Ph. amabilis*, selain itu data menunjukkan hasil yang homogen (tidak terdapat beda nyata). Hal ini menunjukkan bahwa metode purifikasi yang digunakan dapat menghasilkan tingkat kemurnian yang homogen pada semua perlakuan.

Rata-rata tingkat kemurnian yang didapat dari isolasi dan purifikasi DNA genom anggrek *Ph. amabilis* berkisar 1,6594 – 1,9354. Weaver (1999) mengemukakan bahwa suatu larutan DNA dikatakan murni apabila mempunyai kemurnian antara 1,8 – 2,0. Apabila tingkat kemurnian lebih besar dari 2,0 menunjukkan kandungan protein di dalam larutan. DNA masih

Tabel 1. Rerata total konsentrasi DNA hasil isolasi pada beberapa berat dan macam eksplan *Ph. amabilis* (g/ μ l)

Perlakuan Macam eksplan	Berat Eksplan (g)			Rerata
	0,1	0,3	0,5	
Plb	96,56 cde	193,68 bc	378,02 a	222,75
Daun seedling	93,06 cde	139,64 cd	257,28 b	163,33
Akar seedling	23,48 e	22,70 e	39,52 e	28,57
Daun planlet	53,48 de	192,34 bc	248,76 b	164,86
Rerata	0,6665	1,3709	2,3090	(+)

Keterangan: Angka rerata dalam satu kolom yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada taraf kesalahan 5% dengan uji variants dan uji DMRT

Tabel 2. Rerata tingkat kemurnian DNA hasil isolasi pada beberapa berat dan macam eksplan *Ph. amabilis*

Perlakuan Macam eksplan	Berat Eksplan (g)			Rerata
	0,1	0,3	0,5	
Plb	1,9054	1,8420	1,8364	1,8613 a
Daun seedling	1,8542	1,7756	1,8596	1,8298 a
Akar seedling	1,8242	1,7490	1,7046	1,7593 a
Daun planlet	1,8678	1,9354	1,6594	1,8209 a
Rerata	1,8629 a	1,8255 a	1,7650 a	(-)

Keterangan: Angka rerata dalam satu kolom yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada taraf kesalahan 5% dengan uji variants dan uji DMRT

cukup tinggi, sedangkan apabila tingkat kemurnian kurang dari 1,8 menunjukkan bahwa masih banyak RNA dan polisakarida yang terikut pada DNA hasil isolasi tersebut. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui, bahwa rerata tingkat kemurnian DNA dari akar seedling kurang murni dimana masih terdapat kandungan RNA dalam larutan DNA hasil purifikasi. Hal ini kemungkinan karena akar seedling *Ph. amabilis* umur 6 bulan sudah membentuk jaringan parenkim korteks dan lapisan lignin

untuk melindungi akar. Terbentuknya jaringan tersebut akan menyebabkan kesulitan ketika dilakukan penghancuran dinding sel pada saat isolasi DNA. Selain itu pada organ/jaringan yang tidak meristematis akan terdapat senyawa-senyawa lain yang sulit dipisahkan dari DNA genom sehingga mempengaruhi tingkat kemurnian DNA

Analisis konsentrasi DNA hasil isolasi dan purifikasi DNA *Ph. amabilis* pada

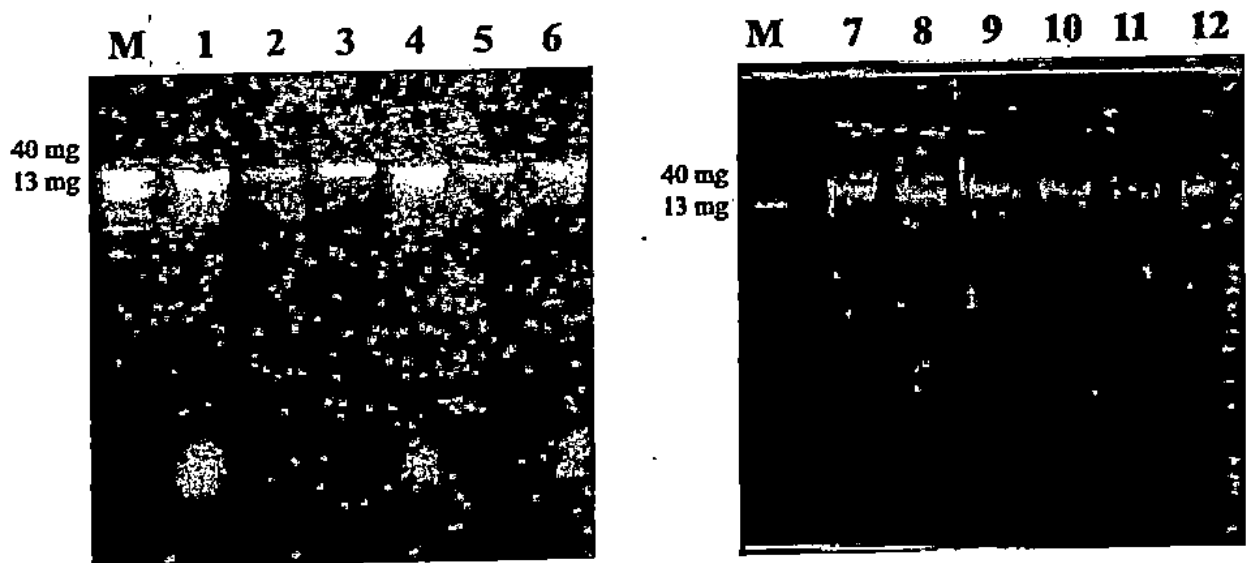
beberapa macam dan berat eksplan dengan metode elektroforetik

Analisis fragmen DNA dengan metode elektroforetik didasarkan pada intensitas pewarnaan fragmen DNA dengan ethidium bromide pada gel agarosa 0,8% yang diamati dengan sinar ultraviolet (UV). Intensitas fragmen DNA selanjutnya dibandingkan dengan intensitas marka Lambda StyI (λ StyI) untuk mengetahui konsentrasi DNA yang diteliti. Marka λ StyI merupakan marka Lambda yang dipotong dengan enzim StyI (lampiran 1)

Hasil analisis elektroforetik tercantum pada gambar 4.

Berdasarkan gambar 4 dapat diketahui bahwa secara garis besar masih terdapat banyak semir dibawah fragmen DNA terutama pada hasil isolasi DNA

akar seedling dan daun planlet. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisis elektroforetik, DNA yang dihasilkan terpotong-potong menjadi fragmen-fragmen kecil sehingga ketika dilakukan analisis elektroforetik pada gel agarosa 0,8 % terdapat banyak semir. Pada gambar 4 juga dapat diketahui bahwa masih terdapat RNA pada perlakuan plb 0,1 g; daun seedling 0,1 g dan daun seedling 0,5 g yang ditunjukkan dengan adanya intensitas warna yang tinggi pada bagian bawah gel agarosa, walaupun DNA yang dihasilkan berdasarkan hasil analisis spektrofotometri, sudah cukup murni. Hal ini dapat terjadi karena dalam analisis DNA dengan spektrofotometri maupun elektroforetik, masing-masing mempunyai kendala yang berbeda. Pada analisis DNA dengan metode spektrofotometri terdapat



Keterangan:

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 : DNA plb; 0,1 g | 7 : DNA akar seedling 0,1 g |
| 2 : DNA plb; 0,3 g | 8 : DNA akar seedling 0,3 g |
| 3 : DNA plb; 0,5 g | 9 : DNA akar seedling 0,5 g |
| 4 : DNA daun seedling 0,1 g | 10 : DNA daun planlet 0,1 g |
| 5 : DNA daun seedling 0,3 g | 11 : DNA daun planlet 0,3 g |
| 6 : DNA daun seedling 0,5 g | 12 : DNA daun planlet 0,5 g |

Gambar 4. Hasil analisis elektroforetik DNA Ph. amabilis pada berbagai macam dan berat eksplan. M : Marka λ StyI

kendala dimana kemungkinan terjadi kesalahan pembacaan nilai absorbansi DNA. Kesalahan tersebut dapat terjadi akibat adanya senyawa fenol (yang digunakan dalam purifikasi) yang dapat mengkontaminasi DNA yang diteliti. Adapun analisis DNA dengan metode elektroforetik terdapat kendala berupa sisa-sisa molekul polisakarida dan protein pada DNA yang dapat mengganggu proses elektroforesis.

Berdasarkan gambar 4 dapat diperkirakan bahwa perlakuan yang menghasilkan DNA terbaik yaitu perlakuan plb 0,5 g yang ditunjukkan dengan intensitas warna yang terang, bersih (tidak ada semir) dan tidak terdapat RNA dalam kolom gel agarosa. Oleh karena itu, berdasarkan kedua metode analisis DNA didapatkan hasil yang tidak kontradiktif yaitu didapatkan hasil terbaik pada perlakuan plb 0,5 g.

KESIMPULAN

Macam dan berat eksplan anggrek yang berbeda menghasilkan konsentrasi DNA yang nyata berbeda, tetapi memberikan pengaruh yang sama terhadap tingkat kemurnian DNA,

Isolasi dan purifikasi DNA genom anggrek *Ph. amabilis* pada plb (umur 2 bulan) dengan berat eksplan 0,5 g memberikan hasil konsentrasi DNA yang terbaik.

DNA yang didapatkan dari isolasi dan purifikasi menunjukkan tingkat kemurnian berkisar 1,6594 – 1,9354

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka perlu dilakukan: (1) penelitian tentang optimasi bahan-bahan kimia

dalam isolasi dan purifikasi DNA agar didapat konsentrasi dan kemurnian DNA yang lebih tinggi; (2) penelitian lanjutan tentang genetika molekuler anggrek *Ph. amabilis* untuk pengembangan bioteknologi tanaman anggrek lebih lanjut

DAFTAR PUSTAKA

- [LIPI] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 1976. *Anggrek Indonesia*. Lembaga Biologi Nasional LIPI. Bogor.
- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley & Sons. New York.
- Brown, A.T. 1991. *Pengantar Kloning Gen*. Alih bahasa : S.A. Muhammad dan Praseno. Yayasan Essentia Medika, Yogyakarta
- Draper, J., R. Scott, P. Armitage and R. Walden. 1988. *Plant Gene Transformation and Gene Expression: A Laboratory Manual*. Blackwell Scientific Publication. Oxford. 355p
- Hartiko, H., 1996. *Pedoman Kuliah Rekayasa Genetika*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM. Yogyakarta. 93 hal
- Kung, Shain-dow, and Wu, R. 1993. *Transgenic Plant*. Academic Press, Inc. New York.
- Mullis, K.B. and F.A. Fallona. 1989. *Recombinant DNA Methodology*. Academic Press. San Diego
- Murray, M.G. & Thompson, W.F., 1980. *Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNA*. *Nucleic Acid Research*: 4321-4325
- Nasir, M., 2002. *Bioteknologi: Potensi*

- dan Keberhasilannya Dalam Bidang Pertanian.** Radja Grafindo Persada. Jakarta. 286hal.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual.** Cold Spring Harbor Lab. Press. New York.
- Stansfield, W. D., Colone, J. S., Cano, R. J., 1996. **Schaum's Outline of Theory and Problems of Molecular and Cell Biology.** McGraw Hill
- Suryowinoto, M. 1996. **Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro.** Kanisius. Yogyakarta 252hal
- Weaver, R.F. 1999. **Molecular Biology.** WBC McGraw-Hill
- Withner, C. L. 1974. **The Orchids.** John Willey & Sons, New York. Pp. 255-256.
- Xue, B.G., 1996. **Practical Protocols In Molecular Biology.** Edited by Yongming Li and Yuqi Zhao, Science Press, New York, pp 125-128
- Yu H, and Goh CJ (2000) **Differential gene expression during floral transsition in an orchid hybrid *Dendrobium*.** Madame Thong-In. Plant Cell Report 19:926-931