

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kepel



Gambar 1. Habitus Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol*) (NParks, 2013)

Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. F. & Thomson) merupakan salah satu jenis buah asli Indonesia yang memiliki klasifikasi kingdom Plantae, divisi Megaoliophyta, kelas Megaoliopsida, sub kelas Magnoliidae, ordo Magnoliales, Famili Annonaceae, genus *Stelechocarpus*, dan spesies *Stelechocarpus burahol* (Simpson, 2006 dalam Sari, 2012). Kepel dicirikan sebagai tanaman yang menjadi identitas flora Daerah Istimewa Yogyakarta karena dipercaya sebagai perlambang kesatuan dan keutuhan mental serta fisik bagi masyarakat Yogyakarta. Kepel juga dipercaya memiliki berbagai khasiat untuk kecantikan seperti memberikan aroma wangi pada keringat, sehingga digemari oleh puteri- puteri keraton (Sari, 2012).

Tanaman Kepel tumbuh dengan baik pada tanah yang subur dan mengandung humus tinggi, lembab serta bertekstur lempung. Kepel banyak dijumpai pada ketinggian 150- 300 m di atas permukaan laut (Mogea *et al.* 2001).

Kepel termasuk jenis pohon yang memiliki bentuk piramid dengan cabang lateral yang tersusun secara sistematis dan memiliki ketinggian mencapai 10-21m dengan diameter batang 60 cm. Daun kepel berbentuk elip-lonjong dengan pangkal meruncing yang memiliki permukaan halus, mengkilat dan berwarna hijau. Bunga kepel berwarna kuning, tumbuh menempel pada batang dan cabang. Buah kepel berbentuk bulat, berwarna coklat, memiliki permukaan kulit yang kasar dan diameter ± 5 cm. Biji pada buah kepel berbentuk bulat gilig, berwarna coklat tua-kehitaman. Biji kepel terdiri atas lapisan kulit biji, endosperm, kotiledon dan embrio. Endosperm biji kepel berwarna putih dan berbentuk tidak beraturan (*ruminant endosperm*) (Widaningsih, 2013).

Tanaman kepel memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan dan kecantikan. Kepel memiliki kandungan seperti antioksidan, flavonoid, *cyclooxygenase-2 inhibitor*, anti-*hyperuricemic*, zat sitotoksik anti kanker, deodoran oral dan senyawa *phytoestrogen* yang berfungsi sebagai obat asam urat, anti kanker, maag, mencegah batu ginjal, dan sebagai deodoran alami untuk mengatasi bau keringat, napas dan juga air seni (Hatmi, dkk., 2015). Kepel juga mengandung vitamin C dan E yang sangat baik untuk menjaga kesehatan kulit dan mengatasi gangguan kulit seperti jerawat. Selain bermanfaat di bidang kesehatan dan kecantikan, batang dari tanaman kepel juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan perkakas rumah tangga. Banyaknya manfaat yang dapat diambil dari tanaman kepel sebagai tanaman identitas Yogyakarta, tidak sebaik dengan keberadaannya.

Tanaman kepel saat ini mulai sulit ditemui, sehingga masuk dalam kategori CD (*Conservation Dependent*) yang artinya keberadaan kepel mulai terbatas karena langka (*rare*) dan statusnya akan meningkat menjadi *vulnerable* (*rare*) terhadap kepunahan apabila tidak dilakukan konservasi (Mogea, 2001). Hal tersebut juga diperkuat dengan pernyataan Haryjanto (2012) yang menyatakan tanaman kepel termasuk dalam daftar tanaman langka dikarenakan adanya beberapa faktor yaitu rendahnya minat masyarakat untuk membudidayakannya, kurang ekonomis, daging buahnya sedikit sementara buahnya sebagian besar berisi biji, adanya anggapan bahwa kepel hanya pantas ditanam oleh raja-raja, dan sulitnya budidaya baik secara pembenihan, stek, maupun cangkok.

Meskipun tanaman kepel memiliki banyak manfaat, tanaman kepel masih digolongkan ke dalam tanaman yang keberadaannya terbatas, sehingga, pengembangan budidaya tanaman kepel sangat penting dilakukan untuk menjaga kelestariannya.

B. DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) adalah polimer asam nukleat yang membawa informasi genetik dari suatu organisme. DNA berperan penting dalam mengatur aktivitas sel baik secara langsung maupun tidak langsung dan menentukan sifat genetik dari makhluk hidup. Penentuan sifat genetik tersebut dapat dilihat dari spesifikasi urutan pasangan basa yang diidentifikasi pada proses *sequencing* (proses pengurutan basa) dalam analisis DNA. DNA pada makhluk hidup dapat dijumpai pada inti sel (nukleus), mitokondria, dan klorofil. DNA pada nukleus memiliki jumlah pasang basa sekitar tiga milyar dan berbentuk linear,

sedangkan pada mitokondria (mtDNA) memiliki jumlah pasang basa lebih sedikit yaitu sekitar 160.000 dan berbentuk sirkuler (Travers dan Georgi, 2015).

Struktur DNA terdiri dari gula pentosa (deoksiribosa), gugus fosfat, dan pasangan basa. Struktur tersebut disatukan oleh ikatan hydrogen dan basa sehingga membentuk struktur dua untai heliks ganda. Pasangan basa pada DNA terdiri dari basa purin dan pirimidin. Basa purin terdiri atas adenin (A) dan guanin (G) yang memiliki struktur cincin ganda, sedangkan basa pirimidin terdiri atas sitosin (C) dan timin (T) yang memiliki struktur cincin-tunggal. Guanin akan membentuk tiga ikatan hidrogen apabila berikatan dengan sitosin, sedangkan adenine akan terbentuk dua ikatan hydrogen apabila berikatan dengan timin. Satu komponen pembangun (*building block*) DNA terdiri dari satu gula pentosa, satu gugus fosfat dan satu pasang basa yang disebut nukleotida (Trabuco dan Elizabeth, 2006).

DNA dari makhluk hidup dapat diperoleh dengan suatu proses ekstraksi, sehingga memudahkan untuk mengidentifikasi DNA yang disebut dengan proses Isolasi DNA (Alatar, dkk., 2012).

C. Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan langkah awal yang perlu dilakukan untuk studi genetika dan molekuler suatu spesies. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan memisahkan DNA dari molekul atau bahan lain yang terdapat pada inti sel seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yaitu penghancuran (*lisis*), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley, 2008).

Keberhasilan dalam isolasi DNA dapat dilihat dari hasil kualitas dan kuantitas DNA yang tinggi untuk mendapatkan DNA murni dalam jumlah yang besar. Hal tersebut dapat diusahakan dengan cara mengoptimisasi teknik isolasi DNA yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, tidak adanya kontaminan seperti protein dan RNA pada DNA yang dihasilkan, metode yang digunakan harus efektif, sederhana, cepat dan dapat dilakukan untuk semua spesies serta tidak mengubah struktur dan fungsi molekul DNA (Surzycki, 2000). Menurut Handayani (2008), proses isolasi DNA juga dipengaruhi oleh jenis tanaman, jenis sampel, umur sampel, jumlah sampel yang diekstrak, formulasi kemikalia, dan alat yang digunakan.

Dalam isolasi DNA terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan salah satunya metode kit. Prinsip penggunaan metode kit yaitu lisis untuk menghancurkan dinding dan membran sel, ekstraksi berfungsi untuk menghancurkan sel dan mengeluarkan isi sel, dan presipitasi untuk menghasilkan supernatan dan pellet (Riya, dkk., 2015). Penggunaan metode isolasi DNA dengan kit memiliki kelebihan yaitu cara pengerjaannya cukup mudah dan memerlukan waktu yang lebih singkat dari metode konvensional atau manual (Mubarak, 2016).

D. Analisis DNA

Analisis DNA merupakan salah satu tahap yang perlu dilakukan untuk mengetahui keberadaan DNA dalam suatu organisme. Keberadaan DNA pada makhluk hidup dapat diketahui melalui uji kualitatif yang dapat dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis dan uji kuantitatif yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer (Handayani, 2008).

1. Uji Kuantitatif DNA

Uji kuantitatif DNA merupakan analisis untuk menentukan kandungan atau jumlah DNA yang terdapat di dalam suatu sampel. Pengukuran jumlah DNA didasarkan pada prinsip iradiasi sinar ultra violet (UV) yang diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Penyerapan iradiasi sinar UV secara maksimal oleh DNA dicapai pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan penyerapan maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm. Pada panjang gelombang 260 nm, apabila kepadatan optik (*optical density*, OD) atau biasa disebut OD₂₆₀ sama dengan satu, maka konsentrasi molekul DNA setara dengan 50µg/ml DNA untai ganda atau 40µg/ml RNA dan DNA untai tunggal atau setara dengan 20µg/ml oligonukleotida untai tunggal (Muladno, 2002).

Tingkat kemurnian DNA dikatakan baik jika nilai rasio *Optical Density* (OD) pada absorbansi panjang gelombang 260 dan 280 nm umumnya 1,8 dan apabila rasio dari absorbansi panjang gelombang 260 dan 280 memiliki nilai 2,0 menunjukkan bahwa kemurnian RNA lebih dominan dibandingkan dengan DNA (Thermo scientific, 2010). Sari, dkk., (2014) menyatakan rasio OD 260/280 nm 1,8 mengindikasikan DNA murni, sedangkan rasio OD 260/280 nm kurang dari 1,8 kemungkinan DNA terkontaminasi protein, fenol ataupun kontaminan lain yang dapat menyerap lebih kuat. Apabila tingkat kemurnian diatas 2,0 menunjukkan bahwa DNA tidak murni yang disebabkan oleh adanya sisa-sisa etanol pada saat

pengeringan yang tidak sempurna dan kontaminasi oleh RNA. Selain itu, faktor lain yang dapat menyebabkan DNA tidak murni adalah adanya sisa kandungan metabolit sekunder pada organ tanaman yang diekstrak (Fatchiyah, dkk., 2011).

2. Uji Kualitatif DNA

Uji kualitatif DNA dapat dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis dari hasil isolasi DNA. Elektroforesis merupakan suatu teknik pemisahan molekul selular berdasarkan ukuran dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Prinsip kerja dari elektroforesis adalah apabila molekul yang bermuatan negatif (DNA) dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarose, kemudian dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya (positif), maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif melalui membran matriks gel agarose (Yuwono, 2005).

Teknik elektroforesis telah banyak digunakan sebagai penentu tingkat kemurnian untuk analisis DNA (Trisna, 2011). Hasil dari proses elektroforesis yaitu berupa pita DNA yang terpisah sesuai dengan ukurannya. Kualitas DNA yang baik dari proses elektroforesis yaitu dihasilkan pita DNA yang tebal, terang, jelas dan tidak *smear* (Utami, dkk., 2012). Pita DNA yang terpotong-potong dan memiliki ukuran kecil merupakan pita DNA yang *smear*. Apabila Pita DNA yang dihasilkan dalam proses elektroforesis tipis dan *smear* maka kualitas DNA tersebut kurang

baik. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya kontaminasi RNA, polisakarida maupun protein (Hikmah, 2013).

E. Hipotesis

Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kuantitas dan kualitas DNA yaitu berat sampel. Hal tersebut dimungkinkan semakin banyak konsentrasi sampel yang digunakan maka dimungkinkan akan semakin banyak jumlah DNA yang didapatkan. Selain itu, lama inkubasi yang tepat dapat memaksimalkan keluarnya DNA dari sel dan mendegradasi protein dan bahan lainnya dari dinding sel secara optimal. Apabila lama inkubasi yang dilakukan tidak optimal (terlalu cepat) dikhawatirkan degradasi protein dan bahan lainnya tidak sempurna sehingga tingkat kemurnian dari DNA akan rendah, sedangkan apabila waktu inkubasi terlalu lama maka dapat merusak DNA.

Oleh karena itu, hipotesis dalam penelitian ini yaitu pada perlakuan berat sampel 0,3 gram dengan lama inkubasi 30 menit merupakan hasil terbaik dalam isolasi DNA tanaman kepel.