

**Deteksi Gen EPSPS-CP4 dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max*) dari Pasar Induk Daerah Istimewa
Yogyakarta**

Rachma Camelia Suratmi*, Genesisiska, Ety Handayani

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*)Email: rachmacamelias@gmail.com

ABSTRACT

*Soybean production has not been able to meet market demand which has caused the fulfillment of soybeans to be imported. Most imported soybeans come from Monsanto, America. One gene for making transgenic plants is the EPSPS-CP4 gene. Meanwhile, GMO or GMO products from Indonesia have not been labeled on packaging products, so that consumer rights have not been fulfilled. The aims of this research were to obtain product requirements from DNA isolation and EPSPS-CP4 gene conversion by PCR (*Polymerase Chain Reaction*) method on soybean plants (*Glycine max*) from the Main Market of the Daerah Istimewa Yogyakarta. The Main Market discussed are Sentral, Beringharjo, Prawirotaman and Gamping markets.*

The research method used is a method of observation conducted in the laboratory by taking samples using purposive sampling. In this research, the quantification of DNA isolation products with various values ranged from 1.00 - 3.00 on A260 / 280 and A230 / 260 with concentrations ranging from 200 ng / μ l - 400 ng / μ l. From sample DNA amplification, 9 samples from 10 samples tested showed that the EPSPS-CP4 gene was detected and 1 DNA band did not appear. Soybeans detected by EPSPS-CP4 genes were American No 1 and 2 soybeans, American soybeans, No Name 1 and 2 soybeans, Local soybeans, Galunggung soybeans, Wonosari soybeans and Anjasmoro soybeans.

Keywords : DNA Isolation, DNA Quantification, Genotyping,

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan komoditas palawija yang kaya akan protein. Kedelai segar sangat dibutuhkan dalam industri pangan dan bungkil kedelai dibutuhkan untuk industri pakan. Kebutuhan kedelai terus meningkat seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk dan kebutuhan bahan baku industri olahan pangan seperti tahu, tempe, kecap, susu kedelai, tauco, snack, dan sebagainya (Sudaryanto, 2016).

Menurut data BPS (2018) menyatakan bahwa produksi kedelai di Indonesia mulai tahun 2011-2013 mengalami penurunan dari 851.286 ton menjadi

779.992 ton, sedangkan pada tahun 2017 mengalami kenaikan dan mampu mencapai produksi 963.183 ton. Berdasarkan produksi tersebut, ternyata produksi kedelai dalam negeri belum mampu mencukupi permintaan produsen bahan baku utama olahan kedelai. Hal ini menyebabkan pemenuhan akan kedelai harus diimpor.

Angka impor kedelai dari tahun 2013 - 2017 mengalami kenaikan terus menerus, dari 1.785,3 ton/tahun menjadi 2.671,9 ton/tahun (BPS, 2018). Kedelai impor di Indonesia berasal dari beberapa negara seperti Amerika Serikat, Kanada, Malaysia, Tiongkok, Uruguay, Ethiopia, Argentina dan lainnya. Ironisnya, hampir setengahnya berasal dari Amerika Serikat, yang mana tingkat adopsi kedelai yang sudah termodifikasi dengan gen asing. Produk dari kedelai *Genetically Modified Organism* (GMO) sudah mencapai 94% dari seluruh areal tanam kedelai di negeri tersebut (Bahagiawati, 2014). Kedelai transgenik umumnya dari Monsanto, Amerika yang telah disisipi gen tertentu. Salah satu gen transgenik yang berada di tanaman kedelai adalah gen EPSPS-CP4 (*3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate synthase*). Gen asing EPSPS-CP4 yang disisipi bertujuan untuk melindungi tanaman dari herbisida *Roundup Ready* (RR) yaitu kedelai toleran herbisida berbahan aktif glifosat. Kedelai ini dibuat melalui transfer gen EPSPS dari *Agrobacterium* sp. strain CP4 (Wardanidkk., 2017). Dalam hal ini, masih terjadi simpang siur informasi mengenai produk rekayasa genetika.

Munculnya simpang siur mengenai informasi tersebut harusnya menuntut adanya pelabelan Produk Rekayasa Genetik (PRG) dalam dunia konsumsi. Hal ini sebenarnya telah diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tahun 2012, namun penerapannya masih sangat rendah adanya pelabelan PRG pada kedelai yang beredar di pasaran (Hetami, 2009).

Bahagiawati (2014) menyebutkan beberapa komoditas tanaman hasil rekayasa tanaman yang tahan terhadap herbisida glifosat dengan disisipinya gen asing dan telah diperbanyak di dunia buatan Monsanto, Amerika diantaranya yaitu jagung, kanola, tomat, kentang, kapas dan kedelai. Indonesia sejak tahun 1975 sudah mulai impor kedelai dengan jumlah yang berbeda-beda per dekadennya. Sampai pada tahun 2000-2010 jumlah impor kedelai meningkat pesat mencapai 200.000 ton per tahun. Kedelai yang bercampur di pasaran tersebut beredar bebas dan tanpa pengawasan, sehingga diduga sudah terjadinya kontaminasi kedelai transgenik antara kedelai lokal dan impor. Dilihat dari bentuk bijinya, tidak memiliki perbedaan yang signifikan antara kedelai lokal dan kedelai impor. Oleh karena itu, diperlukan analisis dalam tingkat gen.

Deteksi tanaman kedelai transgenik dapat dilakukan dengan cara analisis *genotyping*. *Genotyping* dapat memberikan solusi dalam proses menentukan perbedaan genetik antara individu satu dengan lainnya (Hadiarto, 2015). Andisa (2014), menyebutkan bahwa *genotyping* adalah penggunaan rangkaian DNA untuk menentukan populasi biologis dengan menggunakan alat-alat molekuler. Teknik dalam *genotyping* salah satunya yaitu menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Menurut Setyeno (2010) kebutuhan kedelai untuk Yogyakarta tidak bisa dipenuhi dari Yogyakarta sendiri dikarenakan permintaan yang tidak sebanding dengan persediaan di pasaran. Oleh karena itu kekurangan stok kedelai dipenuhi dari luar Yogyakarta, bahkan impor yang dipasarkan melalui pasar induk yang ada

di Yogyakarta. Permana (2010) memaparkan, pasar induk merupakan pasar utama di kota besar yang merupakan pusat penyalur barang kebutuhan untuk pasar lain. Pasar induk Yogyakarta sebagai tempat survei penelitian adalah pasar Sentral, Beringharjo, Prawirotaman dan Gamping. Dengan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukannya penelitian mengenai deteksi gen EPSPS-CP4 dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada tanaman kedelai (*Glycine max*) dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta.

TUJUAN

1. Mendapatkan hasil uji produk isolasi DNA secara kuantitatif pada tanaman kedelai (*Glycine max*) dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta.
2. Mendeteksi gen EPSPS-CP4 dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada tanaman kedelai (*Glycine max*) dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta.

METODE

1. Bahan dan Alat

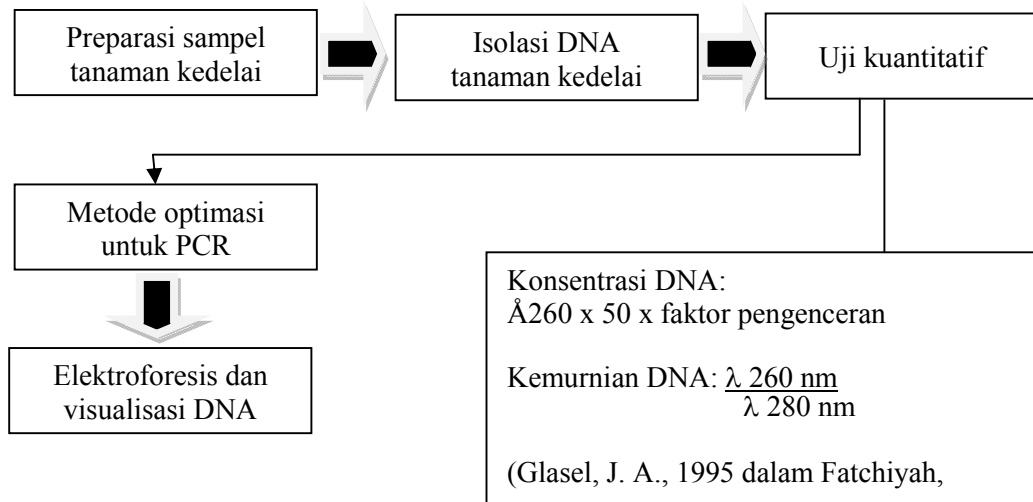
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 10 sampel, meliputi 6 sampel kedelai impor dan 4 sampel kedelai lokal. Primer yang digunakan yaitu primer target sekuen EPSPS-CP4. Bahan reagen ekstraksi menggunakan genomic DNA mini kit plant, etanol absolut, etanol 70%. Elektroforesis menggunakan agarosa, EtBr (*Ethidium Bromide*), *loading dye*, marker 50 bp, TAE buffer dan ddH₂O. Bahan PCR menggunakan master mix gotag green, nuclease-free water dan DNA template.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) BIO RAD, seperangkat alat DNA elektroforesis BIO RAD dan GeneQuant Spectrofotometer, waterbath, autoklaf, microwave, timbangan analitik, glassware, microcentrifugase, refrigerator, mortal dan alu, mikropipet, mikro tips dan UV transiluminator.

2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan merupakan metode observasi yang dilakukan di laboratorium tentang isolasi DNA dan deteksi gen EPSPS-CP4 dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada tanaman kedelai (*Glycine max*) dengan pengambilan sampel menggunakan purposive sampling. Hidayat (2017) menjelaskan purposive sampling merupakan salah satu teknik sampling non random sampling dimana peneliti menentukan pengambilan sampel dengan cara menetapkan cirri-ciri khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian sehingga diharapkan dapat menjawab permasalahan penelitian. Kedelai diperoleh dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta, meliputi pasar Sentral; Beringharjo; Prawirotaman dan Gamping serta kedelai dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Jawa Timur yaitu kedelai Anjasmoro.

Alur kerja yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu: (1) Preparasi sampel, (2) Isolasi DNA, (3) Uji kuantitatif DNA, (4) Metode optimasi untuk PCR, (5) Elektroforesis dan visualisasi DNA. Tahapan penelitian seperti tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Tahapan Penelitian Deteksi Gen EPSPS-CP4 dengan Metode PCR pada Tanaman Kedelai dari Pasar Induk di Daerah Istimewa Yogyakarta

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakter Fenotip Kedelai Impor dan Lokal

Berdasarkan hasil survei yang telah dilakukan, terdapat dua kelompok kedelai yang beredar di pasaran yaitu kedelai impor dan kedelai lokal. Menurut pengelompokan pasar berikut kenampakan biji kedelai impor dan lokal dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan kenampakannya visualisasi karakter fenotip biji kedelai lokal dan impor dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Karakter Fenotip Biji Kedelai Impor dan Lokal dari Pasar Induk Daerah Istimewa Yogyakarta

Tabel 1. Kenampakan Biji Kedelai Hasil Survei dari Pasar Induk Daerah Istimewa Yogyakarta

No	Lokasi Pengambilan Sampel	Kode Sampel Kedelai	Keterangan	Kelompok Kedelai
1	Pasar Sentral	Kedelai No Name 1	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
2	Pasar Sentral	Kedelai No Name 2	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
3	Pasar Sentral	Kedelai Amerika	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
4	Pasar Prawirotaman	Kedelai No Name 1	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
5	Pasar Prawirotaman	Kedelai No Name 2	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
6	Pasar Prawirotaman	Kedelai No Name 3	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
7	Pasar Prawirotaman	Kedelai Lokal	Biji besar, warna kuning mengkilat	Lokal
8	Pasar Beringharjo	Kedelai Amerika No 1	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
9	Pasar Beringharjo	Kedelai Amerika No 2	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
10	Pasar Beringharjo	Kedelai Lokal Wonosari	Biji besar, warna kuning mengkilat	Lokal
11	Pasar Beringharjo	Kedelai Galunggung	Biji besar, warna kuning mengkilat	Lokal
12	Pasar Gamping	Kedelai Amerika	Biji kecil, warna kuning pucat,	Impor
13	Pasar Gamping	Kedelai Lokal Wonosari	Biji besar, warna kuning mengkilat	Lokal
14	UPT Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Jatim	Kedelai Anjasmoro	Biji besar, warna kuning mengkilat	Lokal

Berdasarkan Tabel 1, dapat dikelompokkan bahwa kenampakan biji kedelai impor mempunyai biji kecil dan warna kuning pucat. Sedangkan kedelai lokal mempunyai ukuran biji lebih besar dan warna lebih kuning mengkilat didukung dengan visualisasi karakter fenotip yang disajikan pada gambar 2. Dapat dilihat bahwasanya kedelai impor lebih banyak ditemukan di pasar daripada kedelai lokal. Hal ini menunjukkan bahwa kedelai yang beredar di pasaran berpotensi besar diduga kedelai yang telah tersisipi gen transgenik.

Biji kedelai hasil survei ditanaman untuk mendapatkan daun dan diisolasi. Selanjutnya daun diisolasi untuk mendapatkan DNA sampel sebagai sampel uji. Dari 14 kedelai yang didapatkan dari berbagai pasar terdapat 10 kedelai yang bisa tumbuh dan 4 kedelai tidak tumbuh atau mati.

2. Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Isolasi DNA

Keberadaan DNA pada penelitian ini diketahui secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer. Hasil pengukuran kuantitatif isolasi DNA dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentasi dan Kemurnian DNA Sampel

Kode Sampel	A260/280	A230/260	Konsentrasi (ng/ μ l)
1.	3,00	3,00	300
2.	1,33	2,00	400
3.	1,00	2,00	200
4.	2,00	2,00	200
5.	2,00	2,00	400
6.	3,00	1,50	300
7.	1,00	1,00	200
8.	2,00	1,00	200
9.	1,00	2,00	400
10.	1,33	0,80	400

Keterangan :

Sampel 1 : Kedelai Amerika No 1 (Pasar Beringharjo)

Sampel 2 : Kedelai Amerika No 2 (Pasar Beringharjo)

Sampel 3 : Kedelai Amerika (Pasar Gamping)

Sampel 4 : Kedelai Amerika (Pasar Sentral)

Sampel 5 : Kedelai No Name 1 (Pasar Prawirotaman)

Sampel 6 : Kedelai No Name 2 (Pasar Prawirotaman)

Sampel 7 : Kedelai Lokal (Pasar Prawirotaman)

Sampel 8 : Kedelai Galunggung (Pasar Beringharjo)

Sampel 9 : Kedelai Wonosari (Pasar Gamping)

Sampel 10 : Kedelai Anjasmoro (Jawa Timur)*

* (UPT Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Jatim)

Dalam penelitian ini menunjukkan hasil nilai kemurnian isolasi DNA sampel berkisar antara 1,00-3,00 pada A260/280 dan A230/260. Menurut Ludyasari (2014) kemurnian DNA ditunjukkan dari banyaknya jumlah DNA yang tidak terkontaminasi dalam larutan sampel. Perhitungan tingkat kemurnian DNA dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Larutan DNA murni dapat menyerap sinar UV dengan optimal, sedangkan pada panjang 280 nm protein dapat menyerap sinar UV dengan maksimal (Muladno, 2002). Kemurnian dikatakan tinggi apabila rasio pada A260/280 memiliki nilai 1,80-2,00 dan A260/230 memiliki nilai 1,80-2,20. Apabila nilai kemurnian DNA memiliki nilai kurang dari 1,80 mengindikasikan DNA terkontaminasi oleh protein atau fenol dan apabila nilai lebih dari 2,00 menunjukkan bahwa DNA tidak murni karena terkontaminasi oleh RNA (Fatchiyah, 2010).

Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan bahwa kedelai Amerika (sampel no 4), kedelai No Name 1 (sampel no 5) dan Galunggung (sampel no 8) memiliki nilai

2,0 yang menunjukkan bahwa hasil isolasi DNA tinggi, murni dan tidak terkontaminasi oleh protein maupun RNA. Fatchiyah (2010) menyebutkan bahwa apabila DNA memiliki tingkat kemurnian yang tinggi maka dapat digunakan untuk penelitian molekuler lainnya, sedangkan DNA yang tidak murni dapat mengganggu proses penempelan primer dan menghambat aktivitas enzim *polymerase* DNA pada proses PCR.

Nilai kemurnian DNA A260/280 dibawah 1,80 adalah kedelai Amerika No 2 (sampel no 2) dan kedelai Anjasmoro (sampel no 10) dengan nilai 1,33 dan kedelai Amerika (sampel no 3), kedelai lokal (sampel no 7) dan kedelai Wonosari (sampel no 9) dengan nilai kemurnian adalah 1,00. Nilai tersebut menunjukkan angka yang terindikasi bahwa DNA tidak murni, terkontaminasi oleh protein atau fenol. Kemurnian DNA yang masih rendah dimungkinkan karena *buffer* yang digunakan kurang efektif dalam mendegradasi protein dan sisa senyawa metabolit sekunder pada tanaman kedelai. Salah satu dari kekurangan penggunaan kit DNA adalah *buffer* yang tersedia hanya didesain untuk tanaman yang memiliki metabolit sekunder dan polisakarida yang rendah (Sari, dkk., 2009).

Pada kedelai Amerika No 1 (sampel no 1) dan kedelai No Name 2 (sampel no 6) menunjukkan nilai diatas 2,00 yang menunjukkan bahwa DNA telah terkontaminasi oleh RNA. Kontaminan RNA disebabkan karena tidak adanya atau kurang tepatnya konsentrasi penambahan enzim RNase yang berfungsi untuk mendegradasi RNA. Enzim RNase dalam proses isolasi DNA berfungsi untuk mengurangi kontaminasi RNA (Sari dan Wardani, 2015).

Pada absorbansi A230/260 kedelai Amerika No 2 (sampel no 2), kedelai Amerika (sampel no 3), kedelai Amerika (sampel no 4), kedelai No Name 1 (sampel no 5) dan kedelai Wonosari (sampel no 9) menunjukkan nilai 2,00. Berdasarkan Fatchiyah (2010) menunjukkan bahwa DNA tersebut memiliki tingkat kemurnian yang tinggi dengan batas maksimal nilai absorbansi pada 2,20. Pada sampel no 1 nilainya menunjukkan pada angka diatas 2,20 yaitu 3,00. Hal ini mengindikasikan bahwa DNA telah terindikasi terkontaminasi. Pada kedelai No Name 2 (sampel no 6), kedelai lokal (sampel no 7), kedelai Galunggung (sampel no 8) dan kedelai Anjasmoro (sampel no 10) nilai dibawah 1,8 yang artinya DNA memiliki tingkat kemurnian yang rendah dan telah terkontaminasi dengan zat lain.

Konsentrasi DNA menunjukkan nilai yang beragam. Konsentrasi terendah pada kedelai Amerika (sampel no 3), kedelai Amerika (sampel no 4), kedelai lokal (sampel no 7) dan kedelai Galunggung (sampel no 8) yaitu 200 ng/ μ l. Kedelai Amerika No 1 (sampel no 1) kedelai No Name 2 (sampel no 6) nilai konsentrasi 300 ng/ μ l. Sedangkan sampel dengan nilai tertinggi 400 ng/ μ l pada kedelai Amerika No 2 (sampel no 2), kedelai No Name 1 (sampel no 5), kedelai Wonosari (sampel no 9) dan kedelai Anjasmoro (sampel no 10). Konsentrasi DNA ini digolongkan tinggi sesuai dengan protokol yang digunakan dalam penelitian ini yaitu <250ng untuk reaksi volume 25 μ l. Sehingga hasil kuantifikasi DNA pada semua sampel bisa digunakan untuk tahap molekuler selanjutnya.

3. Deteksi Gen EPSPS-CP4

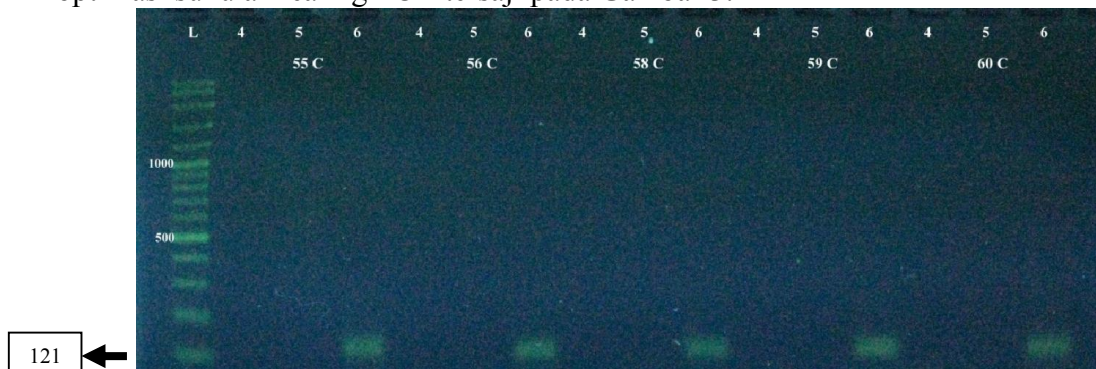
Gen EPSPS (*3-enolpyruvylshikimate-5-phosphate synthase*) merupakan gen dari mutan *Agrobacterium tumefaciens* strain CP4 yang disisipkan kedalam tanaman agar tahan terhadap herbisida glifosat. Tanaman tahan herbisida glifosat

resisten ketika disemprot herbisida glifosat karena transgene EPSPS dari bakteri *Agrobacterium tumefaciens* yang telah disisipkan tidak dapat diikat oleh glifosat sehingga gen tersebut tetap memproduksi asam amino aromatik dan tanaman tetap tumbuh dengan baik (Duke dan Powles, 2008).

Tanaman yang tidak disisipi oleh gen EPSPS-CP4 tidak akan mampu bertahanhidup jika terkena herbisida. Hal ini karena herbisida menghentikan kerja EPSPS, enzim yang berperan penting dalam mensintesis asam amino aromatik *tyrosine*, *phenilalanin* dan *tryptohan* yang dapat memblok protein untuk biosintesis asam amino aromatik pada tanaman. Tanpa enzim EPSPS tanaman tidak dapat memproduksi protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan menyebabkan tanaman menguning dan mati dalam bebsserapa hari atau minggu setelah penyemprotan herbisida ini (Damayanti, 2014).

Pada penelitian ini, deteksi gen EPSPS-CP4 divisualisasi dari hasil amplifikasi DNA yang menggunakan beberapa tahapan. Tahapan pertama yang dilakukan adalah dengan optimasi PCR. Handoyo dan Rudiretna (2001) menyatakan bahwa optimasi proses PCR perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil PCR yang optimal. Secara umum optimasi proses PCR dapat dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut. Optimasi kondisi berkaitan erat dengan faktor-faktor seperti jenis polimerase DNA; suhu; konsentrasi, dalam hal ini berkaitan dengan dNTPs, MgCl₂ dan DNA polimerase; buffer PCR dan waktu. Dalam penelitian ini, optimasi yang dilakukan yaitu optimasi suhu *annealing*.

Optimasi suhu *annealing* dilakukan untuk mendapatkan suhu yang efektif pada primer target sekuen gen EPSPS-CP4 yaitu primer RRS0t untuk menghasilkan pita polimorfik. Pasangan primer RRS0t-5 (forward) dan RRS0t-3 (reverse) memiliki area amplifikasi sebesar 121 bp mengacu pada Tung, dkk., (2008). Optimasi suhu *annealing* penempelan primer yang dilakukan yaitu pada suhu 55°C, 56°C, 58°C, 59°C dan 60°C dengan 32x siklus. Hasil visualiasi optimasi suhu *annealing* PCR tersaji pada Gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi Optimasi Suhu *Annealing* PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada 55°C, 56°C, 58°C, 59°C dan 60°C dengan Konsentrasi Gel Agarose 1,5%

Keterangan :

- L : Marker
- No 4, 5, 6 : DNA sampel

Berdasarkan hasil visualiasi pada Gambar 3, primer gen EPSPS-CP4 dapat mengamplifikasi secara spesifik pada salah satu sampel yang dijadikan

sebagai sampel uji optimasi suhu *annealing* PCR. Hal ini ditunjukkan dengan adanya pita DNA yang terlihat jelas dan nyata. Pita DNA terlihat pada semua suhu yang dicobakan. Dari hasil optimasi suhu *annealing* yang dipilih untuk PCR yaitu pada suhu 58°C karena pita DNA terlihat lebih jelas dibanding suhu lainnya. Selanjutnya dijadikan acuan suhu *annealing* PCR.

Tahap selanjutnya yang dilakukan setelah optimasi suhu *annealing* PCR adalah melakukan PCR pada semua sampel dan dilakukan elektroforesis serta visualisasi DNA. Tahapan Reaksi Amplifikasi DNA pada PCR tersaji pada Tabel 3 dengan volume PCR 10 µl:

Tabel 3. Tahapan Reaksi Amplifikasi DNA Menggunakan PCR

No	Tahapan Reaksi	Suhu Reaksi (°C)	Lama Reaksi (menit)	Jumlah Siklus
1	<i>Preparation</i>	95	4:00	
2	Denaturasi	95	1:00	
3	<i>Annealing</i>	58	1:00	34 X
4	Elongasi	72	1:30	
5	Elongasi Akhir	72	7:00	

Visualisasi DNA dilakukan dengan metode elektroforesis. Visualisasi dilakukan dibawah sinar UV. Hasil visualisasi amplifikasi DNA menunjukkan pita-pita polimorfik yang sesuai dengan target sekuen yang diinginkan. Pita DNA yang baik menunjukkan pita segaris dengan panjang sesuai target, namun jika tidak segaris pita dikatakan smear yang mengindikasikan adanya kontaminasi oleh RNA. Munculnya kontaminan RNA dapat disebabkan oleh kurang maksimalnya kerja RNase pada tahap purifikasi saat isolasi berlangsung (Murtyaningsih, 2017). Visualisasi hasil amplifikasi DNA tersaji pada Gambar 4.

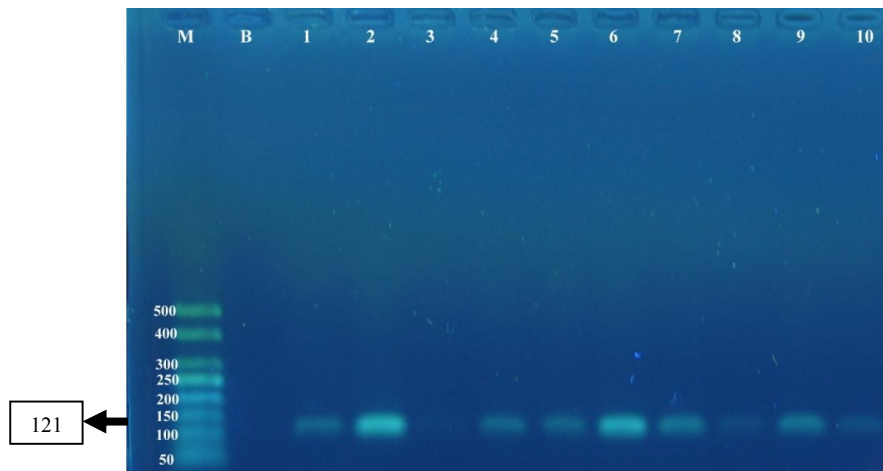
Berdasarkan hasil skoring, lebih dari 80% responden mengatakan bahwa pita DNA nampak pada semua sampel terkecuali sampel 3. Sampel 3 menunjukkan skoring negatif terdeteksinya gen EPSPS-CP4.

Berdasarkan hasil visualisasi deteksi gen EPSPS-CP4 pada Gambar 4, maka 9 sampel terdeteksi adanya gen EPSPS-CP4. Rahmawati (2011) menyebutkan bahwa jika sampel teramplifikasi pada ukuran pita yang sesuai dengan target sekuen yang diinginkan, sampel tersebut mengandung gen yang dideteksi.

Dalam penelitian ini yang ditunjukkan hasil pada Gambar 4, menunjukkan pita DNA yang dihasilkan dalam gel elektroforesis pada 9 sampel dari 10 sampel yang diujikan pada panjang pita 121 bp dengan intensitas ketebalan pita DNA yang berbeda-beda. Namun tidak tampak pita DNA pada kedelai Amerika (sampel no 3). Sedangkan kedelai Amerika merupakan kedelai impor terbesar yang beredar di pasar yang diduga kedelai impor adalah kedelai transgenik.

Kedelai amerika (sampel no 3) pada penelitian ini tidak muncul pita DNA pada hasil amplifikasi. Namun tidak teramplifikasinya gen EPSPS-CP4 bukan berarti bahwa kedelai tersebut bebas dari rekayasa genetik. Hasil ampilifikasi DNA tidak terlihat dapat dikarenakan kurangnya konsentrasi jumlah DNA untuk PCR dan terdegradasinya DNA sampel. Selain itu, terdapat banyak gen asing yang dapat disisipkan ke kedelai rekayasa genetik selain gen yang dideteksi pada

penelitian ini, contohnya gen lectin (LEC) (Randhawa dkk., 2006), gen Cry1Ac (Sawazaki dkk., 2015) dan gen pinII (Hadiarto dkk., 2001).



Gambar 4. Visualisasi Amplifikasi DNA Tanaman Kedelai dengan Metode PCR Menggunakan Primer RRS0t-5 (*forward*) dan RRS0t-3 (*reverse*) dengan Konsentrasi Gel Agarose 1,5%

Keterangan :

- M : Marker
- B : Blank
- Sampel 1 : Kedelai Amerika No 1 (Pasar Beringharjo)
- Sampel 2 : Kedelai Amerika No 2 (Pasar Beringharjo)
- Sampel 3 : Kedelai Amerika (Pasar Gamping)
- Sampel 4 : Kedelai Amerika (Pasar Sentral)
- Sampel 5 : Kedelai No Name 1 (Pasar Prawirotaman)
- Sampel 6 : Kedelai No Name 2 (Pasar Prawirotaman)
- Sampel 7 : Kedelai Lokal (Pasar Prawirotaman)
- Sampel 8 : Kedelai Galunggung (Pasar Beringharjo)
- Sampel 9 : Kedelai Wonosari (Pasar Gamping)
- Sampel 10 : Kedelai Anjasmoro (Jawa Timur)*

* (UPT Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Jatim)

DNA Sampel no 1, 2 dan 4 kedelai Amerika dari pasar Beringharjo dan pasar Gamping terbukti kedelai yang tersisipi gen transgenik EPSPS-CP4. Sampel no 5 dan 6 merupakan kedelai no name yang didapatkan dari pasar Prawirotaman menunjukkan tersisipinya gen transgenik EPSPS-CP4. Sampel no 7, 8 dan 9 merupakan kedelai lokal dari pasar Prawirotaman, Beringharjo, Gamping dan sampel 10 didapatkan dari UPT Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Jatim, pada penelitian ini terdeteksi adanya gen target.

Keberadaan gen asing yang diduga untuk membuat tanaman transgenik pada kedelai lokal dimungkinkan karena adanya kontaminasi baik di pasar maupun saat budidaya. Menurut Bambang dan Muharsini (2013) petani sudah mulai menanam komoditas tanaman pakan dan pangan salah satunya kedelai hasil rekayasa genetika Monsanto, sebagai percobaan kepada petani dan diharapkan dapat menimbulkan kepercayaan bahwa produk rekayasa genetika termasuk kedelai tidak memberikan dampak buruk dan membahayakan. Dari kondisi ini, diasumsikan bahwa benih kedelai lokal yang dimiliki petani sudah bercampur atau terkontaminasi dengan benih kedelai lokal baik pada budidaya

ataupun pemasaran yang sampai saat ini belum adanya pelabelan PRG (Produk Rekayasa Genetika).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji kuantitatif hasil isolasi DNA tanaman kedelai (*Glycine max*) dari pasar induk Daerah Istimewa Yogyakarta menghasilkan nilai kemurnian isolasi DNA yang beragam pada sampel berkisar antara 1,00-3,00 pada A260/280 dan A230/260 dengan konsentrasi berkisar antara 200 ng/ μ l - 400 ng/ μ l.
2. Gen EPSPS-CP4 terdeteksi pada kedelai lokal dan impor, yaitu: kedelai Amerika No 1 dan 2, kedelai Amerika, kedelai No Name 1 dan 2, kedelai Lokal, kedelai Galunggung, kedelai Wonosari dan kedelai Anjasmoro.

DAFTAR PUSTAKA

- Andisa, Maria. 2014. *Genotyping*. <http://maria-andisa-fkg13.web.unair.ac.id/artikel.html>. Diakses tanggal 16 September 2018.
- Bahagiawati. 2014. Pemuliaan Tanaman Dengan Teknologi Rekayasa Genetik dan Potensi Pemanfaatannya di Indonesia. Balai Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Pemuliaan Indonesia (PERIPI). Hal 139 – 14.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2018. Rata-rata Konsumsi Per Kapita Seminggu Beberapa Macam Bahan Makanan Penting. <http://www.bps.go.id/statictable/2014/09/08/950/rata-rata-konsumsi-per-kapita-seminggu-beberapa-macam-bahan-makanan-penting-2007-2017.html>. Diakses tanggal 08 September 2018.
- Damayanti, Diana. 2014. Tanaman PRG Toleran Herbisida Glyphosate. *Warta Biogen* Vol. 10, No. 1, April 2014. Hal 11.
- Duke, S. O. dan S. B. Powles. 2008. Mini-Review Glyphosate: a Once-in-a-Century Herbicide. *Society of Chemical Industry. University MS USA. Pest Management Science* 64: 319 – 325.
- Fatchiyah. 2010. Uji Kualitatif dan Kuantitatif DNA dan RNA. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/files/2010/03/Uji-kualitatif-dan-kuantitatif-DNA-dan-RNA-2010>. Diakses tanggal 11 September 2018.
- Hadiarto, T., Utami, T.I.R., Pardal, S.J. dan Herman, M. 2001. Analisis molekuler gen pinii pada tanaman kedelai transgenik R2. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman Bogor* 133–140.

- Hadiarto, Toto. 2015. Analisa High-Resolution Melting dan Pemanfaatannya. <http://biogen.litbang.pertanian.go.id/2015/03/analisa-high-resolution-melting-dan-pemanfaatannya/>. Diakses tanggal 16 September 2018.
- Handoyo, Darmo dan Rudiretna, Ari. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). <https://core.ac.uk/download/pdf/11980242.pdf>. Diakses tanggal 11 September 2018.
- Hetami, Kamila. 2009. Pelabelan Produk Pangan Yang Mengandung Bahan Rekayasa Genetika Sebagai Wujud Asas Keterbukaan Informasi. Http://Eprints.Undip.Ac.Id/18037/1/Kamila_Hetami.Pdf. Diakses tanggal 11 September 2018.
- Hidayat, Anwar. 2017. Penjelasan Teknik Purposive Sampling. <https://www.statiskian.com/2017/06/penjelasan-teknik-purposive-sampling.html>. Diakses 20 Juli 2019.
- Ludyasari. 2014. Pengaruh Suhu Annealing Pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah. Skripsi. UIN Malang.
- Muladno. 2002. Seputar Teknologi Rekayasa Genetika. Pustaka Wirausaha Muda. Bogor.
- Murtyaningsih. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD. *Agritrop*, Juni 2017. Volume 15 (1). <http://jurnal.unmuhjember.ac.id>. Diakses tanggal 14 Juli 2019.
- Permana, AS. 2010. Pengertian dan Klasifikasi Pasar. <http://repository.unpas.ac.id/29023/1/bab%2520II.pdf>. Diakses tanggal 19 Juli 2019.
- Rahmawati. 2011. Identifikasi Gen Transgenik pada Kedelai Impor dan Tempe di Kota Malang. Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang.
- Randhawa, G.J. dan Firke, P.K. 2006. Detection of transgenes in genetically modified soybean and maize using polymerase chain reaction. *Indian Journal of Biotechnology*.
- Sari, E.P.K. dan Wardani, A.K. 2015. Deteksi molekuler cemaran daging babi pada bakso sapi di pasar tradisional kota malang menggunakan PCR (polymerase chain reaction). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(4): 1294–1301. 5: 510–513.
- Sari, S.K., Maziade, M.N., Lystiorini, D., dan Sulasmi, S. 2009. Optimasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Daun Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) Menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Plant) Geneaid. Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS.

- Sawazaki, H.E., Duarte, A.P., Fuzatto, M.G., Sawazaki, E., Grandi, S.H.R., Ponte, J.F. dan Nogueira, L. 2015. Identification and quantification of corn, soybean and cotton genetically modified by real-time PCR. *American Journal of Molecular Biology* 5: 84–93.
- Setyono, Budi. 2010. Peluang Pengembangan Kedelai di Yogyakarta. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta. Prosiding-2010-36-budi.pdf. Diakses pada 30 Maret 2019.
- Sudaryanto, T. 2016. Ekonomi Kedelai di Indonesia. http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wpcontent/uploads/2016/03/dele_1.tahlim-1.pdf. Diakses tanggal 11 September 2018.
- Wardani, Agustin Krisna, Annisa Arlisyah, Ana Fauziah, Titik Nur Fa'ida. 2017. Identifikasi Gen Transgenik pada Produk Susu Bubuk Kedelai dan Susu Formula Soya dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *AGRITECH*, Vol. 37. Hal. 237-245. <http://doi.org/10.22146/agritech.16656>. Diakses tanggal 10 September 2018.