

## Intensitas dan presentase Keberhasilan Isolasi DNA Darah Itik Lokal Sumatera Barat pada Lama Inkubasi Lysis Sel Yang Berbeda

Sabrina<sup>1)</sup>, Zasmeli Suhaemi<sup>2\*)</sup>, Sari Gando Hidayati<sup>3)</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat

<sup>2</sup> Fakultas Sains, Universitas Nahdlatul Ulama Sumbar, Padang, Sumatera Barat

<sup>3</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Tamansiswa, Padang, Sumatera Barat

Corresponding author: [emizasmeli@gmail.com](mailto:emizasmeli@gmail.com); [zasmelisuhaemi@unusubar.ac.id](mailto:zasmelisuhaemi@unusubar.ac.id)

### ABSTRAK

DNA adalah asam nukleat yang mengandung materi genetik dan berfungsi untuk mengatur perkembangan biologis seluruh bentuk kehidupan secara seluler. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan tingkat keberhasilan isolasi DNA dengan lama Inkubasi yang berbeda pada darah itik lokal Sumatera Barat. Penelitian ini dilaksanakan antara Juni hingga desember 2020. Sebanyak 4 ekor itik Pitalah dan 4 ekor itik Bayang diambil darahnya sebagai sampel penelitian. Perlakuan lama inkubasi terdiri dari 4 waktu, yaitu 0 jam, 3 jam, 6 jam dan 9 jam dengan variabel intensitas pita DNA dan presentase keberhasilan. Data di uji dengan Uji F, yang menggunakan Rancangan Acak Kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama inkubasi Lysis sel tidak memberikan pengaruh terhadap intensitas dan presentase keberhasilan isolasi DNA. Lama inkubasi lysis sel 0 jam menghasilkan pita DNA yang lebih tebal dibanding lama inkubasi lainnya. Keberhasilan isolasi DNA tidak ditentukan oleh lama inkubasi lysis sel pada darah itik lokal, isolasi DNA darah itik lebih cepat didapatkan hasilnya.

**KEYWORDS :** *DNA, itik lokal, lysis sel, inkubasi*

### PENDAHULUAN

*Penyediaan* bibit salah satu upaya mempertahankan kemurnian Plasma Nutfah, untuk pengembangan lebih lanjut. Seleksi bibit yang berkualitas adalah salah satu pendekatan genetik dengan tujuan untuk peningkatan mutu genetik, serta sistem perkawinan yang tepat dapat metingkatkan produktivitas yang akan menghasilkan keturunan lebih baik (Adzitey & Adzitey, 2011). Itik merupakan sumber keanekaragaman hayati ternak Indonesia yang mempunyai

peluang untuk dikembangkan sebagai penghasil telur dan daging (Suhaemi & Hidayati, 2021). Alasan ini juga yang memungkinkan ternak itik untuk dikembangkan dalam skala industri (Onba & Erdem, 2011).

*Deoxyribonucleic acid* atau DNA merupakan senyawa kimia yang paling penting dalam makhluk hidup. DNA merupakan senyawa yang mengandung informasi genetik makhluk hidup dari satu generasi ke generasi selanjutnya. Keseluruhan DNA dalam suatu sel akan

membentuk genom. Genom meliputi bagian gen yang fungsional maupun non-fungsional dalam sel organisme. DNA genom meliputi gen dan intergen.

Isolasi DNA adalah proses pengeluaran DNA dari tempatnya berada (ekstraksi atau lysis) biasanya dilakukan dengan homogenasi dan penambahan buffer ekstraksi atau buffer lysis untuk mencegah DNA rusak (Yuwono, 2008). Berdasarkan Hasil Isolasi, DNA yang di ekstraksi selama 12 jam dengan metode lisis secara overnight menunjukkan hasil yang lebih jelas dibandingkan dengan lisis 2 jam dan metode lisis 10 menit (Hariyadi et al., 2018).

DNA pada makhluk hidup dapat diisolasi secara sederhana. Pengisolasian DNA secara sederhana dapat dilakukan dengan memecahkan dinding sel, membran plasma dan membran inti baik secara mekanik maupun secara kimiawi. Isolasi DNA merupakan suatu teknik yang digunakan untuk memperoleh DNA murni, yaitu tanpa protein dan RNA dari suatu sel dalam jaringan. Pemecahan dinding sel secara mekanik dapat dilakukan dengan pemblenderan atau pengger (Griffiths & Chacon-Cortes, 2014).

Isolasi DNA dapat dilakukan melalui tahapan-tahapan antara lain: preparasi ekstrak sel, pemurnian DNA

dari ekstrak sel dan presipitasi DNA. Jika isolasi DNA dilakukan dengan sample buah, maka kadar air pada masing-masing buah berbeda, dapat memberi hasil yang berbeda-beda pula. Semakin tinggi kadar air, maka sel yang terlarut di dalam ekstrak akan semakin sedikit, sehingga DNA yang terpresipitasi juga akan sedikit.

Proses lisis adalah proses awal yang menentukan keberhasilan suatu isolasi DNA (Gill et al., 2016). Ada berbagai cara yang dapat digunakan dalam tahap lisis yakni cara kimia dengan menggunakan enzim seperti proteinase-K dan SDS dan dengan cara menggunakan nitrogen cair (Ahari et al., 2012).

## MATERI DAN METODA

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian tahap ini adalah sampel darah 8 ekor (♂♀) Pitalah dan 8 ekor (♂♀) Bayang. Berdasarkan pengelompokan itik, Promega, Cell Lysis Solution, Nuclei Lysis Solution, TBE, DNA Rehydration Solution, Protein precipitation Solution, Isopropanol, Gel agarose, GelRed. Dan alat yang digunakan adalah Elektroforesis, Mikro Pipet, Mikro Tube, Tabung Vakutener, Yellow Tips, Blue Tips, dan alat Sentrifugasi. Darah yang diambil dari itik lokal Sumatera Barat di simpan dalam

Vacuntener yang telah berisi EDTA, kemudian disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Isolasi DNA dilakukan menggunakan menggunakan metoda Sambrook (Sambrook et al., 1989) dengan modifikasi, dengan menggunakan purificasi DNA kit produksi Promega, dengan uraian sebagai berikut :

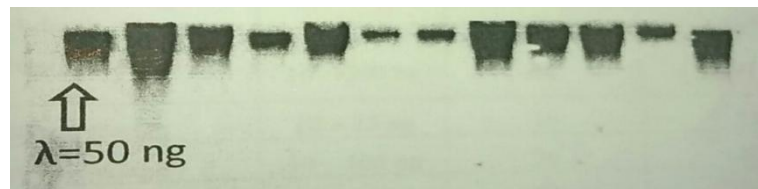
- 1) 20 – 50  $\mu\text{l}$  sampel darah dicampur 300  $\mu\text{l}$  larutan sel lysis dalam tabung sentrifuse steril ukuran 2 ml, campur rata dengan cara membolak-balik tabung sebanyak 5-6 kali.
- 2) Inkubasi pada suhu ruang sesuai perlakuan ( 0,3,6, & 9 jam).
- 3) Sentrifugasi dengan kecepatan 15.000ppm selama 25 detik, kemudian supernatant dibuang hingga tersisa peletnya.
- 4) Proses 1 – 3 diulang sebanyak 2 kali, kemudian dilakukan vortex sampai terlarut.
- 5) Menambahkan 300  $\mu\text{l}$  Larutan Nuclei lysis, pipet cairan up-down sehingga pellet mencair atau larut dan larutan bersifat viscous.
- 6) Menambahkan larutan pengendap protein (protein precipitation ) sebanyak 200  $\mu\text{l}$ , sehingga terbentuk endapan yang berwarna keruh.
- 7) Sentrifugasi dengan kecepatan 15.000 ppm selama 3 menit.
- 8) Supernatan ditransfer ke tabung sentrifuse baru streil ( ukuran 1,5 ml).
- 9) Presipitasi dengan isopropanol 300  $\mu\text{l}$  suhu ruang sehingga terlihat benang-benang DNA.
- 10) Sentrifugasi dengan kecepatan 15.000 ppm selama 1 menit sehingga pellet akan mengendap.
- 11) Supernatan dibuang dengan hati-hati.
- 12) Pellet yang tinggal dicuci dengan ethanol 70% (p.a).
- 13) Ethanol dibuang dengan pipet secara hati-hati, balikkan tabung di atas tissue kering sampai habis dan kering anginkan pada suhu ruang selama 10 - 15 menit.
- 14) Menambahkan larutan rehidrasi sebanyak 50 – 100  $\mu\text{l}$  ( tergantung ukuran pellet), typing tabung hingga pellet larut atau inkubasi pada  $4^{\circ}\text{C}$  semalaman.
- 15) Hasil isolasi di uji dengan menggunakan elektroforesis.

Gel elektroforesis disiapkan dengan memasukkan gel elektroforesis 1% (w/v) agarose ke dalam Erlenmeyer yang berisi buffer elektroforesis 1 x TBE, campuran kemudian dipanaskan sampai gel yang terbentuk bening. Gel dibiarkan hingga suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya gel dimasukkan ke dalam cetakan gel elektroforesis yang telah ditutup dengan selotip kedua ujungnya dan dibiarkan sampai gel mengeras. Gel hasil elektroforesis diamati dengan menggunakan UV trans-illuminator dipotret menggunakan unit gel dokumentasi produk bionetra.

Variabel penelitian ini adalah ada tidaknya pita DNA, rataan intensitas DNA, dan persentase keberhasilan isolasi

DNA. Intensitas DNA yang dihasilkan, dibandingkan dengan marker puta DNA ukuran 50 ng. Jumlah Isolasi yang

berhasil dalam 1 satuan Percobaan yang dinyatakan dengan % (persen)



Gambar 1 : Pembanding pita DNA hasil Isolasi DNA (Suhaemi, 2017) .

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dalam rangka menguji ada atau tidaknya pita DNA hasil isolasi dari darah dengan lama inkubasi lysis sel yang berbeda pada itik lokal Sumatera Barat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Keberhasilan isolasi DNA darah itik Lokal dengan lama inkubasi lysis sel 0 – 9 jam.

Lama inkubasi lysis sel	I	II	III	IV
0 Jam	+	+	+	+
3 Jam	+	+	+	-
6 Jam	-	-	+	-
9 Jam	+	+	+	+

Ket : (+) ada hasil pita DNA (-) tidak ada hasil pita DNA

Tabel 1 menggambarkan bahwa hampir pada semua perlakuan lama inkubasi bisa menghasilkan pita DNA, namun tidak terjadi pada semua kelompok sampel darah yang digunakan. Kemunculan pita DNA pada lama inkubasi 0 jam, hampir sama dengan lama inkubasi 9 jam. Hasil ini berbeda dengan hasil yang diperoleh penelitian lain (Hariyadi et al., 2018), bahwa DNA yang diestraksi selama 12 jam dengan metode lysis secara overnight menunjukkan hasil yang lebih jelas dibandingkan dengan

metode lysis 2 jam serta metode lysis 10 menit. Hal ini menunjukkan bahwa setiap sampel darah hewan tertentu memiliki lama lysis sel yang berbeda, bahkan bisa tanpa inkubasi sama sekali.

Adanya sampel darah yang tidak berhasil diperoleh DNA nya setelah isolasi, dapat juga disebabkan tidak pecahnya dinding sel. Karena isolasi DNA diawali dengan pemecahan dinding sel yang akan diisolasi DNANYA seperti sel-sel darah merah (Fatchiyah, 2011). Ditambahkan bahwa isolasi DNA

merupakan Teknik mengeluarkan DNA secara murni, yaitu tanpa protein dan jaringan (Griffiths & Chacon-Cortes, 2014).

Hasil penelitian yang menguji pengaruh lama inkubasi lisis sel terhadap hasil isolasi DNA dari darah itik lokal dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan hasil isolasi DNA darah itik Lokal dengan lama inkubasi lisis sel 0 – 9 jam.

Lama inkubasi lisis sel	Intensitas pita DNA (ng)	Keberhasilan Isolasi (%)
0 Jam	46,25	75,00
3 Jam	4,38	37,50
6 Jam	6,25	12,50
9 Jam	15,63	62,50

Sebagaimana hasil pada Tabel 1, bahwa pita DNA hasil isolasi terlihat di semua perlakuan lama inkubasi lisis sel, namun dari hasil Tabel 2 menunjukkan bahwa intensitas pita DNA dan persentase keberhasilan hasil isolasi untuk setiap lama inkubasi lisis sel. Perbedaan intensitas dan persentase keberhasilan ini dapat disebabkan karena terjadinya kerusakan DNA saat proses isolasi. Karena Prinsip dasar dari isolasi DNA adalah upaya untuk membebaskan materi-materi genetik dari dinding sel dan ikatan-ikatan protein histon, terutama sekali terletak dalam inti sel dengan megupayakan tingkat kerusakan mekanis maupun fisis seminim mungkin terhadap materi genetik tersebut.

Intensitas hasil isolasi DNA harus lebih besar dari 25 ng, karena untuk amplifikasi lebih lanjut menggunakan marka genetic menggunakan PCR

minimal dibutuhkan 25 ng (Zhang et al., 2013). Hal ini bisa juga disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan dapat terjadi dalam proses pemipetan, pada saat dibolak balik dalam *ependorf*, disentrifus, atau karena aktifitas bahan-bahan kimia tertentu. Pengeringan alkohol yang kurang sempurna juga memungkinkan terjadinya kontaminasi yang memberikan efek pada perhitungan DNA dengan spektrofotometer (Fatchiyah, 2011).

## KESIMPULAN

Lama inkubasi yang berbeda pada proses isolasi darah itik lokal Sumatera Barat, tidak memberikan pengaruh yang nyata. Lama inkubasi 0 jam justru memberikan hasil yang terbaik terhadap rataan intensitas pita DNA dan presentase keberhasilan isolasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adzitey, F., & Adzitey, S. (2011). Duck production: Has a potential to reduce poverty among rural households in Asian communities-a review. *World's Poult. Res*, 1(1), 7–10.
- Ahari, H., Razavilar, V., Motalebi, A. A., Akbari-Adergani, B., Kakoolaki, S., Shahbazadeh, D., Anvar, A. A., & Mooraki, N. (2012). DNA extraction using liquid nitrogen in staphylococcus aureus. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(4), 926–929.
- Fatchiyah. (2011). *ISOLASI DNA*. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/dna-isolation> [Diakses 26 Juli 2022].
- Gill, C., Van De Wijgert, J. H. H. M., Blow, F., & Darby, A. C. (2016). Evaluation of lysis methods for the extraction of bacterial DNA for analysis of the vaginal microbiota. *PLoS ONE*, 11(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0163148>
- Griffiths, L., & Chacon-Cortes, D. (2014). Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*, 2, 1. <https://doi.org/10.2147/BSAM.S46573>
- Hariyadi, S., Narulita, E., & Rais, A. (2018). Perbandingan Metode Lisis Jaringan Hewan dalam Proses Isolasi DNA Genom pada Organ Liver Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) The Comparison Lysis Methods of Animal Tissue in Genomic DNA Isolation Process in Liver Organ of White Rat (*Rattus Norvegicus*). *Proceeding Biology Education Conference*, 15(1), 689–692.
- Onba, E. E., & Erdem, E. (2011). *Body weight and body measurements of male and female Pekin ducks obtained from breeder flocks of different age*. 75(4), 268–272.
- Sambrook, J., Fritsch, E. R., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Suhaemi, Z. (2017). *Potensi dan Variasi Genetik Itik Lokal Sumatera Barat* (Disertasi). Fakultas Peternakan Universitas Andalas.
- Suhaemi, Z., & Hidayati, S. G. (2021). Improvement of the Quality of Duck's and Chicken's Meat Using African Leaf (*Vernonia amygdalina*). *Proceedings of the International Seminar on Promoting Local Resources for Sustainable Agriculture and Development (ISPLRSAD 2020)*, 13, 163–167. <https://doi.org/10.2991/ABSR.K.210609.026>
- Zhang, Y., Chen, Y., Zhen, T., Huang, Z. Y., Chen, C. Y., & Li, X. Y. (2013). *Analysis of the Genetic Diversity and Origin of Some Chinese Domestic Duck Breeds*. 3119(13). [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60447-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60447-5)