

TEKNIK EKSTRAKSI DNA IKAN SIDAT (*Anguilla spp.*) DI LABORATORIUM BIOTEKNOLOGI AKUAKULTUR UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU

Received: 30 November 2024

Accepted: 31 Januari 2025

*Korespondensi:

icafariza@gmail.com

Farizah Zakirah^{1*}, Mohd Shafiq bin Mohd Razak², An Nisa Nurul Suci¹

¹Prodi Ilmu Kelautan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian
Jl. W. R. Supratman, Kandang Limun, Provinsi Bengkulu, 38371,
Indonesia

²Institute of Tropical Aquaculture And Fisheries, University Malaysia
Terengganu, Kuala Nerus, Terengganu, 21030, Malaysia

Abstrak — Potensi ikan sidat di Provinsi Bengkulu memerlukan proses pengidentifikasian secara molekuler dengan cara melihat susunan DNA. Dengan mempelajari susunan DNA ikan sidat dapat membantu dalam memahami aspek-aspek biologi dan ekologi ikan sidat. Pemahaman yang diperoleh dapat membantu meningkatkan kegiatan konservasi dan pengelolaannya sehingga populasi ikan sidat tetap terjaga dan dapat terus dimanfaatkan secara berkelanjutan. Dengan terjaganya populasi sidat, usaha perikanan baik budidaya, perikanan tangkap, ataupun pengolahan hasil perikanan dapat berkembang lebih lanjut. Ekstraksi DNA adalah proses isolasi DNA dari sel atau jaringan suatu organisme untuk dianalisis lebih lanjut. Ekstraksi DNA diperlukan untuk memisahkan atau mengeluarkan DNA sampel yang akan diamati. Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui proses ekstraksi DNA dan Uji Elektroforesis pada ikan sidat. Hasil yang didapat dari penelitian ini yaitu smear pada beberapa pita DNA menunjukkan bahwa DNA yang diperoleh belum murni. Pita hasil ekstraksi yang diamati setelah uji elektroforesis dinilai kurang optimal.

Kata Kunci — Ekstraksi DNA, Elektroforesis, Ikan Sidat

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Potensi ikan sidat di Provinsi Bengkulu memerlukan proses pengidentifikasian secara molekuler dengan cara melihat susunan DNA. Dengan mempelajari susunan DNA ikan sidat dapat membantu dalam memahami aspek-aspek biologi dan ekologi ikan sidat. Pemahaman yang diperoleh dapat membantu meningkatkan kegiatan konservasi dan pengelolaannya sehingga populasi ikan sidat tetap terjaga dan dapat terus dimanfaatkan secara berkelanjutan. Dengan terjaganya populasi sidat, usaha perikanan baik budidaya, perikanan tangkap, ataupun pengolahan hasil perikanan dapat berkembang lebih lanjut.

Menurut Ariyanti dan Sianturi (2019), ekstraksi DNA merupakan serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ekstraksi merupakan tahap awal yang paling penting dalam penelitian molekuler. Secara umum proses ekstraksi meliputi penghancuran membran sel menggunakan Sodium Dodesil Sulphate (SDS)/sejenis detergen, penghilangan protein dan RNA menggunakan Proteinase K & RNase, pengendapan DNA, dan pemanenan DNA. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik konvensional maupun menggunakan kit (Sundari dkk., 2018). Tahapan utama ekstraksi DNA menggunakan kit terdiri atas lisis sel, pengikatan DNA (*binding*), pencucian DNA (*wash*), dan elusi dengan menggunakan reagen-reagen/buffer yang telah disediakan oleh produsen Extraction Kit (Ariyanti dan Sianturi, 2019).

Proses pengikatan (*binding*) DNA terjadi oleh adanya membran silika yang terdapat dalam mini spin column tube. Prinsip dasar dari membran silika di dalam spin column sangatlah sederhana. DNA berikatan dengan membran silika pada spin column dengan adanya bantuan dari garam chaotrophic dengan konsentrasi tinggi, kontaminan akan dibuang dan DNA dielusi dari membran silika dengan air atau garam penyangga berkonsentrasi rendah. Elusi atau pemisahan DNA dari komponen sel lainnya dalam hal ini pelepasan DNA dari kolom silika, merupakan tahap akhir terpenting dalam ekstraksi menggunakan kit.

Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini, yaitu untuk mengetahui proses ekstraksi DNA dan Uji Elektroforesis pada ikan sidat.

Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah untuk memberikan pengalaman, wawasan, dan menambah keterampilan dengan praktek secara langsung.

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Program praktik kerja lapangan dilaksanakan pada Bulan Juli 2024 di Laboratorium Bioteknologi Akuakultur Universiti Malaysia Terengganu.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada praktik kerja lapang ini, yaitu pinset, gunting, microtube, micropipet (10 μ L, 100 μ L, dan 1000 μ L), vortex, *sentrifuge*, labu ukur, Erlenmeyer, elektroforesis dan *gel documentation*. Bahan yang digunakan pada praktik kerja lapang ini, yaitu *Zymo DNA Extraction Kit*, sampel sidat, alcohol 96%, TBE Buffer, dan agarose.

Prosedur Kerja

Metode Penelitian

Ekstraksi DNA

Tahapan utama ekstraksi DNA dalam praktik lapang ini menggunakan kit yang terdiri atas lisis sel, pengikatan DNA (*binding*), pencucian DNA (*wash*), dan elusi dengan menggunakan reagen-reagen/buffer yang telah disediakan oleh produsen *Extraction Kit*. *Extraction Kit* yang digunakan pada praktik lapang ini yaitu *Zymo DNA Extraction Kit*.

Pada praktik lapang ini terdapat 5 sampel ikan sidat yang digunakan untuk ekstraksi DNA. Sampel berupa potongan bagian tubuh ikan sidat yang diawetkan menggunakan alkohol dengan konsentrasi 96%. Kelima sampel ikan tersebut diambil dari sungai yang berbeda, yaitu Sungai Air Bengkenang (AB), Sungai Air Nipis (AN), Sungai Kedurang Ulu (KU), Sungai Tanjung Agung (TA) dan Sungai Enggano (SE).

Purity Check

Uji kemurnian sampel DNA dilakukan menggunakan alat *nanophotometer*, proses ini dilakukan dengan cara meneteskan 1 μ L sampel hasil ekstraksi ke dalam alat tersebut, kemudian dilihat nilai kemurnian DNA pada sampel.

Uji Elektroforesis

Gel agarose dibuat dengan cara melarutkan 1 gram agarose dengan 90ml air suling, kedua bahan tersebut dicampur di erlenmeyer kemudian dipanaskan menggunakan microwave selama 2 menit. Setelah dipanaskan larutan didinginkan sebentar menggunakan suhu ruang, kemudian ditambahkan 10ml TBE Buffer dan 1 μ L gel stain

lalu dilarutkan dengan cara diguncang perlahan. Larutan dituangkan ke cetakan yang telah dipasang sisir agar sumur gel dapat terbentuk. Kemudian larutan didiamkan sampai mengeras. Setelah agarose mengeras masukkan 1 μL marker/ladder ke dalam sumur gel dan DNA sampel sebanyak 4 μL (3 μL sampel + 1 μL loading dye). Sebelum proses elektroforesis, suspensi DNA dicampur dengan peyangga muatan berwarna (*loading dye*). Penambahan pewarna ini berfungsi untuk menambah densitas sehingga DNA berada di bagian bawah sumur; selain itu, pewarna ini digunakan untuk memudahkan meletakkan DNA kedalam sumur dan menandai migrasi DNA (Sundari, 2020). Kemudian gel dimasukkan ke alat elektroforesis dan direndam dengan larutan TBE Buffer. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 90 volt dan 40 amps selama 70 menit. Hasil agarose yang telah dielektroforesis dilihat menggunakan *gel documentation*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Purity check

Tabel 1. Nilai Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi.

Sampel	Nilai Kemurnian
AB	1,904
AN	1,902
KU	1,919
TA	1,921
SE	1,908

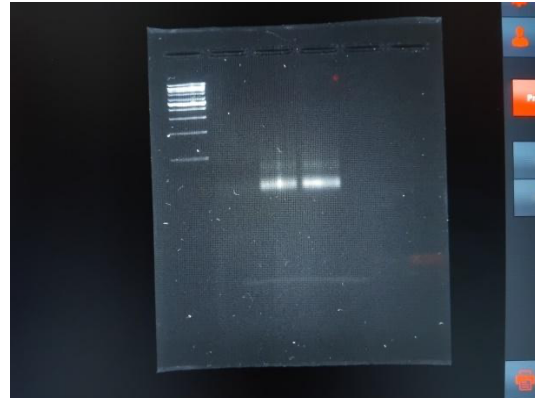
Uji Elektroforesis

Uji Elektroforesis digunakan untuk melihat hasil visualisasi ekstraksi DNA, visualisasi dapat dilihat menggunakan *gel documentation*.

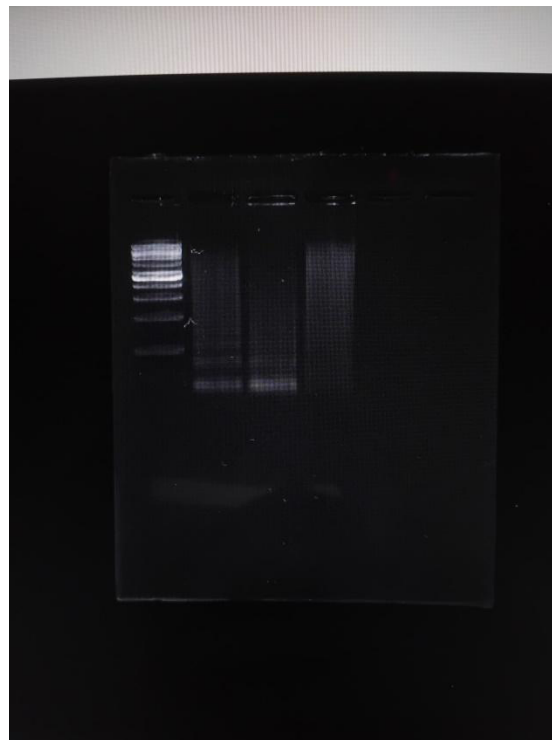
PROSIDING SEMINAR NASIONAL TAHUN 2024 HASIL PENELITIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN



Gambar 1. Hasil Visualisasi
Elektroforesis ke-1
(AN, AB, KU, SE, dan TA)



Gambar 2. Hasil Visualisasi
Ekelektroforesis ke-2
(SE2 dan KU2)



Gambar 3. Hasil Visualisasi Elektroforesis ke-3
(AN2, AB2, dan TA2)

Pembahasan

Purity Check

Konsentrasi DNA yang menunjukkan hasil isolasi DNA yang baik jika nilai konsentrasi lebih besar dari 20 ng/ μ L, sedangkan nilai kemurnian diukur pada panjang gelombang A260/A280 berada pada rentang nilai 1.7-2.1 (Piskata *et al.*, 2017).

Hasil isolasi DNA menunjukkan semua sampel yang diuji dalam penelitian ini menunjukkan nilai kemurnian dan konsentrasi DNA yang masuk dalam kategori DNA yang baik. Hasil kemurnian sampel DNA, yaitu sampel AB 1.904, sampel AN 1.902, sampel KU 1.919, sampel TA 1.921 dan sampel SE 1.908.

Uji Elektroforesis

Gambar 1 menunjukkan hasil elektroforesis produk ekstraksi DNA. Sinar pita yang muncul dan memanjang ke atas merupakan marks/ladder yang digunakan. Sedangkan pita DNA diantaranya merupakan sampel ikan sidat yang telah melalui proses ekstraksi DNA. Hasil elektroforesis yang divisualisasi dengan alat gel doc tidak menunjukkan sinar pita. Hal ini dapat disebabkan adanya kontaminasi pada saat melakukan proses ekstraksi DNA terhadap sampel.

Berdasarkan hasil visualisasi pada gambar 2 dan 3, terdapat *smear* pada beberapa pita DNA yang menunjukkan bahwa DNA yang diperoleh belum murni, hal ini dapat disebabkan karena masih ada zat lain yang ikut tercampur. Menurut Sundari dan Priadi (2020), molekul DNA yang bagus adalah DNA yang menunjukkan pita tebal, tegas, dan tidak terdapat smear. Smear dalam hal ini disebabkan DNA mengalami degradasi atau DNA terfragmentasi (tidak utuh). Dengan demikian, semakin tebal, tegas, dan utuh DNA yang diperoleh akan membuat kuantitas dari DNA semakin bagus. Terdapat smear pada beberapa pita DNA yang menunjukkan bahwa DNA yang diperoleh belum murni atau masih terdapat zat-zat lain yang ikut tercampur. Smear terbentuk akibat degradasi DNA menjadi potongan-potongan pendek. Hal ini dapat terjadi karena perlakuan DNA selama isolasi.

KESIMPULAN

Proses ekstraksi meliputi penghancuran membran sel menggunakan *Sodium Dodesil Sulphate* (SDS)/sejenis detergen, penghilangan protein dan RNA menggunakan

PROSIDING SEMINAR NASIONAL TAHUN 2024 HASIL PENELITIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN

Proteinase K & RNase, pengendapan DNA, dan pemanenan DNA. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik konvensional maupun menggunakan kit. Hasil kemurnian sampel DNA, yaitu sampel AB 1.904, sampel AN 1.902, sampel KU 1.919, sampel TA 1.921 dan sampel SE 1.908.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada dosen pembimbing selama melaksanakan praktik kerja lapangan dan penulisan laporan ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan praktik kerja lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanti, Y., dan Sianturi, S. 2019. Ekstraksi DNA total dari Sumber Jaringan Hewan (Ikan Kerapu) Menggunakan Metode Kit for Animal Tissue. *Journal of Science and Applicative Technology*. 3(1): 40-45.
- Sundari, S., Priadi, B., dan Sudarmaji, S. 2018. Perbandingan Tiga Metode Ekstraksi DNA untuk Analisa PCR Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 16(2): 67-72.
- Sundari, S., dan Priadi, B. 2020. Teknik isolasi dan elektroforesis DNA ikan tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 17(2): 87-90.
- Piskata Z, Pospisilova E, Borilova G. 2017. *Comparative study of DNA extraction methods from fresh and processed yellowfin tuna muscle tissue*. *Int J Food Prop*. 18;20(sup1): S430-43.