

Karakteristik Profil DNA Isolat Bakteri Dari Sampel Air Galon Dikantin Laboratorium Kimia FMIPA UNP Menggunakan Primer OPE 12 Dan OPE 14 Dengan Teknik RAPD

Farrah Azzahra¹⁾, Syakira Nurfajriya¹⁾, Karina Kusuma Putri ¹⁾, Hafizah
Fadhilah¹⁾, Hafizhah Putrizalda¹⁾, Afifatul Achyar¹⁾, Yuni Ahda¹⁾

¹⁾ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Negeri
Padang

Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat., Kec. Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat 2517

*Email: farrahazzahra6@gmail.com

ABSTRACT

Water is a material that has an important role in life. Along with the increasing demand for water as a necessity of life, water has the risk of being contaminated by bacteria. The purpose of this study was to determine the DNA profile of bacterial isolates from gallon water samples using primers OPE 12 and OPE 14 with RAPD (Random Amplification Polymorphic DNA) technique. The results showed that DNA bands from gallon water samples using primers OPE 12 and OPE 14 on RAPD were less visible due to several factors.

Kata kunci: (Bacteria, Gallon Water, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD))

ABSTRACT

Air merupakan materi yang memiliki peran penting dalam kehidupan. Seiring dengan bertambahnya permintaan akan air sebagai kebutuhan hidup, air memiliki resiko dapat terkontaminasi oleh suatu bakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil DNA isolat bakteri dari sampel air galon menggunakan primer OPE 12 dan OPE 14 dengan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pita DNA dari sampel air galon menggunakan primer OPE 12 dan OPE 14 pada RAPD kurang tampak akibat adanya beberapa faktor.

Kata kunci: (Air Galon, Bakteri, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD))

PENDAHULUAN

Biologi molekuler merupakan cabang terbaru dari ilmu biologi, namun perkembangannya sudah sangat pesat di negara-negara maju. Ilmu ini mempelajari kehidupan pada tingkat molekul, dengan titik berat pada molekul DNA, RNA, dan sintesis protein. Bermula pada tahun 1665 sejak Robert Hooke memperkenalkan istilah sel yang merupakan hasil pengamatannya menggunakan mikroskop sederhana dengan perbesaran 30x. Sel dibuat dari irisan melintang tumbuhan, yang sejatinya nampak adalah dinding sel. Pengetahuan tersebut bertahan lebih dari satu abad sampai akhirnya Anton van Leeuwenhoek (1680), menemukan sebuah mikroskop yang

mampu melihat benda-benda kecil yang membuktikan secara lebih mendetail apa yang dimaksud oleh Hooke. Perkembangan biologi molekuler mulai berkembang pesat pada era 1953, yaitu pada saat Watson dan Crick menemukan struktur *Deoxiribo Nucleic Acid* (DNA). Penemuan ini sebenarnya sungguh amat tidak terduga mengingat kedua orang ini masih muda belia. Karya yang benar-benar mengubah segala tatanan pada ilmu pengetahuan dan seluruh cabang yang menjadikan makhluk hidup sebagai objek kajian. Ilmu-ilmu lain yang turut berdampak adalah baik itu biologi, kedokteran, pertanian, peternakan, perikanan, kesehatan, dan ilmu-ilmu lain yang berkecimpung dengannya. Secara istilah, biologi molekuler merupakan ilmu yang membahas mengenai struktur, proses, dan mekanisme yang terjadi pada tingkat DNA, RNA, asam amino, dan protein. Secara garis besar, biologi molekuler dipisah berdasarkan kajian yang diamati, yaitu genomik dan proteomik. Genomik membahas mengenai struktur, proses, dan mekanisme yang berkaitan dengan DNA dan RNA, secara lebih luas dimulai dari struktur, proses transkripsi, proses modifikasi DNA, alternatif *splising*, transformasi dari inti sel ke sitoplasma, proses terjadi pengikatan mRNA oleh ribosom, sampai pada pelepasan mRNA dari Ribosom. Proteomik membahas mengenai struktur asam amino, modifikasi rantai asam amino, dan struktur protein.

Air merupakan materi yang sangat penting dalam kehidupan tumbuhan, hewan, dan manusia. Kebutuhan air bersih terutama air minum semakin lama semakin meningkat seiring keperluan dan taraf kehidupan penduduk. Pengisian ulang air minum saat ini juga meningkat pesat karena kebutuhan akan air minum instan yang terjangkau untuk rumah tangga dan gerai ritel. Air minum isi ulang saat ini menjadi pilihan populer bagi masyarakat Indonesia, karena cenderung lebih murah dan mudah didapat. Hal ini akan mendorong pengembangan industri penyimpanan air minum (DAM) pengisian ulang yang dapat melayani masyarakat lokal. Setiap depot air minum isi ulang memiliki fasilitas pengolahan untuk membersihkan wadah yang menampung air minum isi ulang. Air minum dengan kualitas yang tidak memenuhi standar akan berdampak buruk bagi kesehatan karena keberadaan bakteri patogen yang menjadikan air minum sebagai media penyebaran. Air dari sumber alam dapat diminum oleh manusia tetapi masih terdapat resiko bahwa air ini telah tercemar oleh bakteri (misalnya *Escherichia coli*) atau zat-zat berbahaya.

Bakteri merupakan makhluk hidup yang bersel tunggal atau uniseluler yang memiliki ukuran 1-2 mikro. Bakteri hidup berkoloni dan dapat hidup dimana saja. Bakteri diklasifikasikan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Proses ekstraksi DNA dilakukan untuk memisahkan genom DNA dari molekul lain di dalam suatu sel. Langkah awal dalam analisis DNA adalah memisahkan genom DNA menjadi fragmen-fragmen spesifik yang lebih kecil yaitu dengan cara mengekstraksi genom DNA dari darah (Sjafaraenan *et al.*, 2018).

Isolasi DNA merupakan salah satu tahap penting dalam kegiatan memperoleh informasi genetik dan analisis genetik. DNA dengan kualitas yang baik digunakan untuk kegiatan seperti pemanfaatan marka molekuler isolasi DNA pada prinsipnya

adalah mengambil DNA secara murni dengan cara menghilangkan komponen-komponen selain DNA. Prinsip isolasi DNA terdiri dari tiga tahapan, yaitu: lisis dinding dan membran sel, pemisahan atau purifikasi DNA, dan presipitasi DNA. Metode isolasi DNA yang sudah dikenal adalah metode dengan kit komersial, yaitu dengan *filter based kit*. Prinsip metode *filter based kit*, yaitu menggunakan filter untuk menangkap DNA dan membuang komponen sel bakteri selain DNA (Rizko, 2020). Keberhasilan isolasi DNA sangat ditentukan oleh kuantitas dan kualitas sel yang diisolasi. Semakin banyak jumlah sel sumber DNA dan semakin baik kualitas sel tersebut dalam arti tidak terkontaminasi dengan sel dari organisme lain atau bahan-bahan pengganggu lainnya, maka semakin banyak jumlah dan bagus kualitas DNA yang didapatkan (Ahda *et al.*, 2012).

Polymerase Chain Reaction (PCR) menjadi metode baku dalam proses amplifikasi urutan basa DNA tertentu (selektif). PCR dapat menggandakan jumlah urutan nukleotida atau urutan basa tertentu secara *in vitro* (di dalam tabung). Prinsip kerja PCR didasarkan pada kemampuan enzim DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang merupakan komplementer dari DNA cetakan. Komponen utama reaksi PCR terdiri dari: *template* DNA atau DNA cetakan; primer yang didesain; enzim DNA polimerase; dan nukleotida (dNTP atau *deoxynucleoside triphosphate*). Hasil uji PCR pada sampel yang dideteksi dengan elektroforesis menggunakan sinar UV. Mesin PCR mempunyai keterbatasan kemampuan di dalam mengamplifikasi gen yang panjangnya lebih dari 1.000 pb. Waktu yang normal untuk amplifikasi produk PCR sepanjang kurang lebih 500 pb adalah denaturasi 1 menit, annealing 30 detik dan elongasi 1,5 menit untuk setiap siklusnya (Yuwono, 2006). Produk PCR yang diharapkan pada penelitian ini adalah 1.500 pb sehingga memerlukan modifikasi waktu untuk setiap tahapan tersebut (Yarza, *et al.*, 2017).

Elektroforesis DNA gel merupakan sebuah metode untuk memisahkan molekul DNA berdasarkan ukurannya. Proses interpretasi gambar DNA sendiri secara manual untuk mendapatkan hasil yang akurat sangat susah, membutuhkan waktu, dan kemungkinan error cukup besar. Hal ini bisa disebabkan kompleksitas pergerakan molekul DNA itu sendiri. Molekul yang bergerak dalam DNA akan berhenti pada jarak migrasi tertentu tergantung pada muatan, bentuk, dan ukurannya, sehingga kecocokan suatu DNA dapat dianalisis berdasarkan hasil elektroforesis DNA tersebut. Salah satu standar bahan yang digunakan dalam elektroforesis DNA, yaitu gel agarosa. Pada DNA hasil elektroforesis gel agarosa, molekul DNA dianalisis berdasarkan letaknya setelah mengalami migrasi pada proses elektroforesis tersebut. DNA yang akan dianalisis dibandingkan dengan DNA *marker* atau DNA yang telah diketahui.

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah metode untuk mengidentifikasi polimorfisme DNA pada genom. Genotyping Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah salah satu penanda molekuler berbasis PCR yang paling banyak digunakan untuk identifikasi pada tingkat intraspesies dan interspesies. Genotipe RAPD memiliki kemampuan untuk mendeteksi polimorfisme pada segmen nukleotida

dalam DNA dengan cepat menggunakan primer tunggal primer yang memiliki urutan nukleotida yang acak. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 primer RAPD primer. Genotyping RAPD secara efektif menyajikan informasi genetik dalam bentuk karakteristik karakteristik pola pita yang mengidentifikasi perbedaan genotipe berdasarkan perbedaan pita DNA yang dapat diamplifikasi dengan primer acak universal (Achyar, Ahda and Putri, 2023). Alel pada penanda RAPD adalah pita atau dominan *marker* (penanda). Seleksi primer dengan melakukan beberapa reaksi PCR terhadap beberapa primer berbeda dalam kondisi yang sama dan menggunakan sampel DNA yang sama. Tujuan seleksi primer ini untuk mencari primer acak yang menghasilkan penanda pita. Primer dengan panjang lebih dari 30 basa tidak disarankan, karena tidak menunjukkan lebih tinggi spesifisitas yang lebih tinggi. Selain itu, primer yang panjang dapat mengakibatkan hibridisasi dengan primer lain sehingga tidak membentuk polimerisasi DNA target (Yuselman *et al.*, 2023 dan Sari *et al.*, 2022).

Analisis RAPD secara cepat dan efektif dapat mengidentifikasi penanda genetik untuk membedakan spesies-spesies yang berhubungan erat. RAPD digunakan sebagai alat untuk pembuatan peta genetik, identifikasi suatu strain, spesies, populasi dan sistematik bermacam-macam organisme. Penanda RAPD dapat membedakan populasi laboratorium yang secara morfologi tidak bisa dibedakan. Metode RAPD merupakan metode yang penting untuk menyelidiki fenomena genetik pada organisme yang tersebar luas pada berbagai macam organisme termasuk bakteri, tanaman tingkat tinggi, Vertebrata dan Invertebrata termasuk nyamuk dan serangga lainnya. Metode ini mengidentifikasi sejumlah besar polimorfisme genetik pada beberapa serangga (Anggereini, 2008). Ukuran amplikon yang berbeda pada beberapa sampel mengindikasikan bahwa desain primer yang digunakan mampu membedakan variasi dalam satu spesies (Syamsurizal *et al.*, 2021).

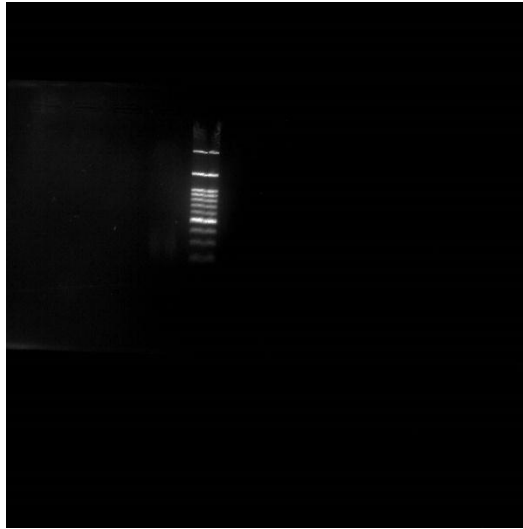
METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dan deskriptif, yakni dengan melakukan eksperimen serta menggambarkan masalah yang terjadi pada masa sekarang atau yang sedang berlangsung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Juni 2024. Pengambilan sampel diambil dari sampel air galon di kantin Laboratorium Kimia FMIPA UNP. Kemudian dilanjutkan dengan analisis molekuler (Sirwati *et al.*, 2024, Afif & Putri., 2019 dan Handayani & Putri, 2021) di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian eksperimental ini menggunakan teknik RAPD, dengan sampel air galon yang dibentuk dalam 2 bentuk isolat, kemudian melakukan teknik

isolasi tipe *boiling*. Penggunaan teknik isolasi *boiling* ini lebih cepat dan lebih sederhana. Selanjutnya dilakukan analisis dengan metode PCR dan elektroforesis.



Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA menggunakan primer OPE 12 dan OPE 14

Hasil amplifikasi DNA pada Gambar 1 menunjukkan tingkat ketebalan pita yang bervariasi pada setiap sampel. Hal ini disebabkan oleh kualitas DNA hasil isolasi yang berbeda-beda pada setiap sampel sehingga sangat menentukan dalam tahapan PCR. Pada hasil akhir elektroforesis tampak di sebelah kanan, yaitu primer OPE 12 dan bagian kiri primer OPE 14. Setelah diamati, tidak ditemukan adanya pita DNA pada kedua primer tersebut. Hal ini dapat terjadi karena adanya kontaminasi dan rendahnya konsentrasi pada isolat yang terdapat pada primer bersangkutan. Namun, dalam hal lain ini dapat terjadi karena primer tersebut tidak berlaku pada isolat tersebut. Sehingga mengakibatkan pita pada sumur tidak terbentuk.

Sedangkan hasil PCR menggunakan primer universal 16S rRNA umumnya berupa pita DNA yang dapat dilihat setelah elektroforesis gel agarosa. Primer universal 16S rRNA sering digunakan untuk mengamplifikasi daerah konservatif dari gen 16S rRNA, yang ada di hampir semua bakteri. Ini memungkinkan identifikasi bakteri pada tingkat genus atau spesies melalui sekuensing DNA atau analisis fragmen.

Pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi cetakan DNA. Primer tersebut merupakan primer yang dapat menghasilkan pita-pita polimorfik, jelas, reproduktibilitas baik, hasil amplifikasi pita DNA relatif stabil, dan mudah dibaca. Pemilihan primer untuk analisis keragaman genetik sangat berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs

penempelan tersendiri, akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda baik dari ukuran pasang basa maupun jumlah pita DNA.

KESIMPULAN

Metode RAPD digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA, metode ini menggunakan oligonukleotida pendek (biasanya 10 bp) sebagai primer yang akan berikatan dengan bagian komplemennya. Primer pada RAPD menentukan daerah genom mana yang akan diamplifikasi melalui PCR.

REFERENSI

- Achyar, A., Ahda, Y. and Putri, D.H. (2023) 'Tropical genetics', 2(2), pp. 56–65.
- Ahda, Y., Rozi Muharni, I. and Hilda Putri, D. (2012) 'Kualitas Dna Hasil Isolasi Dari Beberapa Bagian Batang Rambut Untuk Bahan Analisis Dna Forensik', *Eksakta*, 1, pp. 88–92.
- Afif, R., & Putri, D. H. (2019). 16S rRNA Gene amplification of endophytic bacteria which produces antimicrobial compounds. *Serambi Biologi*, 4
- Anggereini, E. (2008) 'Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Suatu Metode Analisis DNA Dalam Menjelaskan Berbagai Fenomena Biologi.', *Biospecies*, 1(2), pp. 73–76.
- Handayani, S. O., & Putri, D. H. (2021). Comparison of Fenol-Kloroform Method and Mini-Prep CTAB Method for Chili (*Capsicum annum* L.) Plant DNA Isolation. *Jurnal Serambi Biologi*, 6(2), 37-41
- Sari, R. M., Afifatul A., Ahda, Y., Putri, D.H (2022). *Genotyping of Sumatera local variety of citrus using random amplified polymorphism DNA (RAPD) technique*. *Tropical Genetics*, 2(2), 56-65
- Sirwati, F., Nurfalinda, S., Salsabila, S., Putri, D.H. (2024). *Comparison of Boiling Methods for Bacterial DNA Isolation Using Waterbath and Heatblock*. *Jurnal Serambi Biologi*, 9(1), 115-118
- Sjafaraenan, S. *et al.* (2018) 'Profil Dna Gen Follicle Stimulating Hormone Reseptor (Fshr) Pada Wanita Akne Dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA, *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 3(1), pp. 1–11.
- Syamsurizal, S. *et al.* (2021) 'Design of primer Ipomoea batatas chloroplast gene matK', *Tropical Genetics*, 1(1), pp. 12–16.
- Yarza, H.N., Ahda, Y. and Fifendi, M. (2017) 'Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase dari Sumber Air Panas Isolation and Characterization Thermophilic Bactery Produced Inulinase from Hot Spring Water', *Jurnal Bio-Site*, 03(02), pp. 40–80.
- Yuselman, O. *et al.* (2023) *Primers Design and PCR Optimization for Developing Salmonella Sp. Detection Method on Refillable Drinking Water Sample*. Atlantis Press International BV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si. dan Afifatul Achyar, M.Si. selaku dosen pengampu mata kuliah Teknik Biologi Molekuler dan asisten laboratorium yang telah membantu dalam kegiatan penelitian ini.