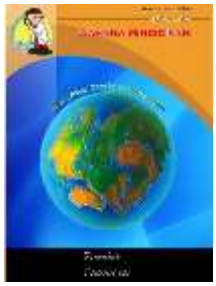
**Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan**

https://jurnal.peneliti.net/index.php/JIWP

Vol. 8, No.8, Juni 2022



# Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (Oryza sativa L) Menggunakan Marka SSR (*Simple Sequence Repeat*)

**Carolin Sonia Siallagan*[1], Muhammad Syafi'i[2], Muhammad Yamin Samaullah[3], Untung Susanto[4], Estria Furry Pramudyawardani[5], Desy Prastika[6]**

[1,2,3]Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang
[4,5,6]Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (Indonesian Center for Rice Research)
[1,2,3]Jl. HS Ronggowaluyo, Telukjambe Timur, Karawang 41361*
[1,2,3]email: info@unsika.ac.id
[4,5,6]Jl. Raya 9 Sukamandi,Ciasem-Subang 41256
[4,5,6]Telp. (0260) 520157
[4,5,6]email: bbpadi@litbang.pertanian.go.id
*Alamat email koresponden: carolinsonia0@gmail.com

**Info Artikel**
Sejarah Artikel:
Diterima: 26 Mei 2022
Direvisi: 30 Mei 2022
Dipublikasikan: Juni 2022
e-ISSN: 2089-5364
p-ISSN: 2622-8327
DOI: 10.5281/zenodo.6605393

***Abstract:***
*Micronutrient deficiency remains a major concern in Indonesia, demonstrating how critical it is to meet micronutrient requirements, particularly for Zn micronutrients. Zn can boost a child's IQ and lessen the risk of bleeding during childbirth (Kennedy et al, 2003). Inpara 1, Inpara 2, Inpara 3, Inpara 4, Inpara 5, Inpara 7, Inpara 9, Aek Sibundong, Bahbutong, Baroma, Batu tei, Ciasem, Cibodas, Cibogo, Cigeulis, Ciherang, Cialamaya Muncul, Cisokan, Conde, Fatmawati, IR 64, and Ketonggo) and 10 SSR markers with high Zn content were used as genetic material (RM475, RM3322, RM441, RM5607, RM335, RM300, RM162, RM3331, RM8007, and RM243). Contamination and the leftover solution used in the DNA extraction and isolation method can generate smears on some rice genotyping samples*

***Keywords:*** *DNA Fingerprint Visualization, SSR Markers, Rice Genotypes Containing Zn.*

## PENDAHULUAN

Permasalahan malnutrisi mikronutrien di Indonesia masih menjadi perhatian besar sebagai dasar betapa pentingnya pemenuhan gizi mikro khususnya untuk gizi mikro Zn. Zn dapat membantu kecerdasan anak-anak pada usia dini dan mengurangi peluang pendarahan pada ibu melahirkan (Kennedy *et al*, 2003).

Inovasi sidik jari DNA dalam mendeteksi kandungan Zn pada padi (*Oryza sativa* L) merupakan salah satu inisiatif dalam membangun kesehatan rakyat Indonesia dari segi gizi mikro. Untuk menghasilkan sidik jari DNA yang dapat mengdeteksi Zn harus melalui tiga tahap utama yaitu: ekstraksi DNA, PCR, dan elektroforesis. Tahap-tahap tersebut termasuk dalam prosedur biologi molekuler yang tujuannya untuk mempermudah manusia melihat kenampakan gen.

Balai Besar Tanaman Padi telah mengembangkan proyek Zn ini dimulai dari tahun 2019 (Susanto, 2019) dan masih berlanjut hingga sekarang tahun 2022 dengan tujuan dapat menciptakan varietas padi lokal mengandung zat gizi mikro Zn.

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif yang ditujukan untuk mendeskripsikan fenomena-fenomena yang ada, baik fenomena alamiah maupun fenomena buatan manusia. Fenomena itu bisa berupa bentuk, aktivitas, karakteristik, perubahan, hubungan, kesamaan, dan perbedaan antara fenomena yang satu dengan fenomena lainnya (Linarwati *et al* 2016). Furchan (2004) menjelaskan proses penelitian yang bertujuan untuk memperoleh informasi tentang status suatu gejala dikategorikan penelitian deskriptif.

## METODE PENELITIAN

Materi genetik yang digunakan adalah 49 genotipe padi mengandung Zn dan 10 marka SSR terpaut kandungan Zn Tinggi.

**Tabel 1.** Materi studi molekuler kandungan Zn Pada Padi Tahun 2016

| No. | Varietas | Zn |
|---|---|---|
| **1** | Inpara 1 | 19.20 |
| **2** | Inpara 2 | 19.10 |
| **3** | Inpara 3 | 24.60 |
| **4** | Inpara 4 | 21.10 |
| **5** | Inpara 5 | 22.70 |
| **6** | Inpara 7 | 22.30 |
| **7** | Inpara 9 | 21.00 |
| **8** | Aek Sibundong | 21.70 |
| **9** | Bahbutong | 21.10 |
| **10** | Baroma | 21.2 |
| **11** | Batu Tegi | 22.20 |
| **12** | Ciasem | 22.00 |
| **13** | Cibodas | 18.40 |
| **14** | Cibogo | 21.90 |
| **15** | Cigeulis | 23.60 |
| **16** | Ciherang | 24.70 |
| **17** | Cilamaya Muncul | 21.30 |
| **18** | Cisokan | 19.60 |
| **19** | Conde | 19.80 |
| **20** | Fatmawati | 21.40 |
| **21** | IR 64 | 23.90 |
| **22** | Ketonggo | 21.90 |
| **23** | Logawa | 21.10 |
| **24** | Lusi | 23.20 |
| **25** | Mekongga | 23.30 |
| **26** | Membaramo | 23.10 |
| **27** | Sarinah | 23.50 |
| **28** | Setail | 22.60 |
| **29** | Silugonggo | 19.80 |
| **30** | Sintanur | 21.00 |
| **31** | Situ Bagendit | 20.90 |
| **32** | Situ Patenggang | 29.60 |
| **33** | Sunggal | 24.60 |
| **34** | Tukad Petanu | 21.40 |
| **35** | Widas | 22.60 |
| **36** | Dodokan | 26.40 |
| **37** | Jatiluhur | 22.30 |
| **38** | Kalimutu | 31.10 |
| **39** | Limboto | 24.20 |
| **40** | Wayrarem | 26.80 |
| **41** | Indragiri | 21.60 |
| **42** | Margasari | 22.60 |
| **43** | Martapura | 23.60 |
| **44** | Siak Raya | 22.20 |
| **45** | B13884-MR-29-1-1 | 34.2 |
| **46** | Mawo | 34.6 |
| **47** | Talun Seribu C | 37.3 |
| **48** | Pulut Timuru | 40.1 |
| **49** | Digul | 27.8 |

Sumber: Pengujian Lab DNA BB Padi Tahun 2016

**Tabel 2.** Daftar Marka yang Digunakan Dalam Penelitian

| No | Marker | Chrom. | Tm | Size |
|---|---|---|---|---|
| **1** | RM475 | *2* | 55 | 235 |
| **2** | RM3322 | 5 | 61 | 121 |
| **3** | RM441 | 11 | 55 | 189 |
| **4** | RM5607 | 2 | 55 | 107 |
| **5** | RM335 | 4 | 55 | 104 |
| **6** | RM300 | 2 | 55 | 121 |
| **7** | RM162 | 6 | 61 | 229 |
| **8** | RM3331 | 12 | 50 | 129 |
| **9** | RM8007 | 7 | 55 | 178 |
| **10** | RM243 | 1 | 55 | 116 |

Sumber : KOBI (2020) dan Swamy *et al* (2018)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Marka SSR (*Simple Sequence Repeats*)

Teknik penanda molekuler telah efektif dalam analisis genetik dan banyak digunakan dalam program pemuliaan tanaman (Asins *et al*. 1995). Penanda molekuler adalah fragmen DNA di satu tempat genom spesifik terkait dengan karakter penanda molekul. Penggunaannya tergantung pada faktor faktor seperti karakter da isi investigasi informasi yang diminta (Mccouch *et al*. 2002)

Penanda mikrosatelit atau *Simple Sequence Repeats* (SSR) biasa diterapkan dalam ilmu taksonomi dan keanekaragaman (Jatoi et al. 2006). Di antara sederetan marka molekuler, marka SSR memiliki banyak keunggulan, antara lain sebaran yang luas dalam genom padi, memiliki variasi alelik tinggi yang mudah dianalisis menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan memiliki keterulangan (*reproducibility*) (Mc Couch *et al*., 2002). *Reproducibility* suatu metode atau tes yang dapat didefinisikan sebagai kedekatan kesepakatan antara hasil independen diperoleh dengan metode yang sama pada subjek (atau objek, atau bahan uji) yang identik tetapi dalam kondisi berbeda (pengamat yang berbeda, laboratorium yang berbeda dll) (Slezak and Waczulikova 2011).

Penggunaan penanda SSR relatif sederhana, sangat informatif, memiliki lokus spesifik dan dapat membaca karakterisitik kodominan, sehingga dapat diterapkan untuk analisis keragaman genetik (Mc Couch *et al*., 2002). Ribuan marka SSR padi telah dikembangkan dan dipetakan lokasinya pada kromosom padi sehingga menjadi rujukan untuk pemetaan gen dan QTL (*Quantitative Trait Locus*) terkait sifat-sifat penting pada padi (Gramene, 2013).

### Sidik Jari DNA

Sidik jari DNA (*DNA fingerprinting*) adalah teknologi DNA yang dapat melihat keragaman individu, yang juga dapat membedakan makhluk hidup yang berkerabat dekat. Tes DNA semakin banyak digunakan untuk menganalisis bahan biologis sejak DNA memiliki beberapa keunggulan, antara lain DNA bersifat spesifik (setiap makhluk hidup memiliki urutan DNA yang unik), relatif stabil, dapat diperbanyak secara *in vitro* (dalam kasus penelitian ini menggunakan alat *Polimeration Chain Reaction* (PCR)), dan hampir semua sel tubuh organisme tingkat tinggi DNA hampir tersebar. Metode sidik jari DNA dapat diterapkan untuk semua makhluk hidup, baik prokariotik maupun eukariotik (Madigan *et al*., 2009) *dalam* (Farida 2009).

Analisis sidik jari DNA dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya melibatkan penggunaan penggunaan metode PCR. Sidik jari DNA menggunakan metode PCR lebih mudah dilakukan karena tidak memerlukan enzim restriksi, tidak memerlukan hibridisasi ke pelacak tertentu, tidak memerlukan transfer fragmen DNA dari gel ke membran dan dapat dilakukan untuk sejumlah kecil

sampel DNA (Yuwono, 2009) *dalam* (Farida 2009).

Pada prinsipnya cara kerja dalam melakukan sidik jari DNA tergantung jenis organisme yang akan diteliti. Oleh sebab itu perlu adanya optimasi prosedur mencakup, jenis primer yang akan digunakan, seberapa banyak campuran reaksi PCR yang akan dilakukan, cara preparasi DNA, ataupun bahan-bahan lain yang digunakan. Peneliti perlu melakukan optimasi lagi saat penelitian agar memperoleh hasil yang baik walaupun prosedur yang sudah ada dipakai sebagai acuan dalam melakukan penelitian (Farida 2009).

**PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

PCR adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA in vitro yang terdiri dari beberapa tahap berulang (siklus) dan jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. Ada beberapa tahap proses PCR yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (*annealing*); (4) pemanjangan primer (*extension*) dan (5) pemantapan (*post-extension*). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo and Rudiretna 2001).

Komponen-komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah templat DNA; sepasang primer (*Forward*) dan (*Reverse*), yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukelotida yang komplementer dengan urutan nukleotid a DNA templat; dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*); buffer PCR; magnesium klorida (MgCl2) dan enzim polimerase DNA (Handoyo and Rudiretna 2001).

Primer akan menempel (*anneal primers*) pada daerah tertentu gen target yang berasal dari waktu pendinginan primer hingga suhu tertentu setelah proses pemisahan dengan denaturasi termal untai ganda DNA (*unamplified DNA*) templat. Dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai dapat digunakan untuk memperpanjang primer (*extend primers*). Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20-40 siklus. Setelah siklus keempat secara eksponensial gen target DNA yang diinginkan (*short "target" product*) akan meningkat dan DNA non-target (*long product*) akan meningkat secara linier (Newton and Graham, 1994) *dalam* (Handoyo and Rudiretna 2001).

Menurut Ebd-Elsalam (2003) *dalam* (Yustinadewi *et al*. 2018), primer mempengaruhi spesifitas dan sensitivitas reaksi PCR. Keberhasilan proses PCR ditentukan dari rancangan suatu primer. Primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses ekstensi DNA (Handoyo and Rudiretna 2001)

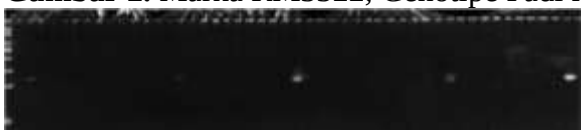
**Elektroforesis**

Elektroforesis adalah metode pemisahan yang menggunakan medan listrik yang diproduksi oleh elektroda untuk membuat koneksi dengan muatan dalam bentuk kation atau anion. Elektroforesis membutuhkan media pemisahan berupa fase diam, seperti gel agarose yang dicampur dengan larutan buffer untuk menjaga keasaman sampel selama proses pemisahan. Pada bidang rekayasa genetika, alat ini sangat mendukung pembaharuan penelitian. Kecepatan molekul bergantung dalam perbandingan (rasio) muatan terhadap massa dan juga tergantung pada bentuk molekulnya (Harahap 2018).

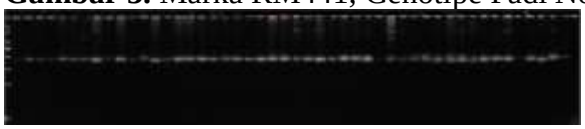
**Visualisasi Gel Akrilamid Pada 10 Marka SSR Terpaut Kandungan Zn Tinggi**

**Gambar 1.** Marka RM475, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)

**Gambar 2.** Marka RM3322, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)

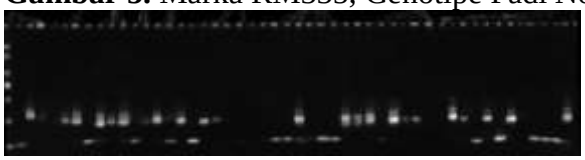


**Gambar 3.** Marka RM441, Genotipe Padi No. 1-49



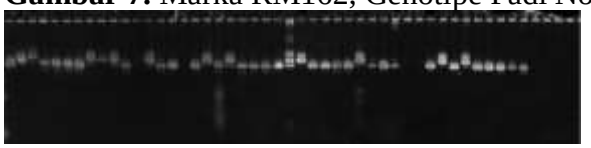
**Gambar 4.** Marka RM5607, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)

**Gambar 5.** Marka RM335, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)

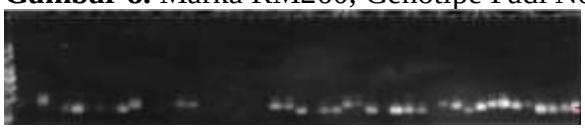


**Gambar 6.** Marka RM300, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)

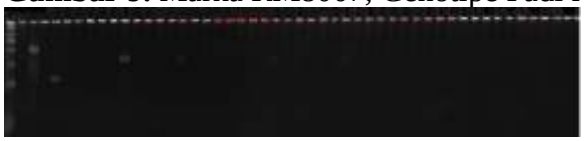
**Gambar 7.** Marka RM162, Genotipe Padi No. 1-49



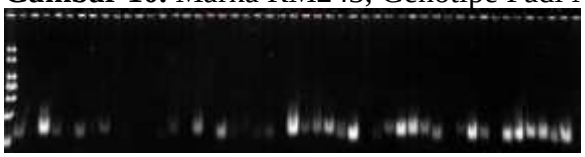
**Gambar 8.** Marka RM260, Genotipe Padi No. 1-49



**Gambar 9.** Marka RM8007, Genotipe Padi No. 49-1 (terbalik)



**Gambar 10.** Marka RM243, Genotipe Padi No. 1-49



## KESIMPULAN

*Smear* yang terbentuk pada beberapa sampel genotipe padi dapat disebabkan karena telah terjadinya kontaminasi dan masih terbawanya sisa larutan yang digunakan pada proses ekstraksi dan isolasi DNA. Suparningtyas *et al*., 2018 menyatakan bahwa *smear* yang terbentuk pada proses isolasi menunjukkan telah terjadinya degradasi atau fragmentasi DNA genom selama proses isolasi. Pita yang tidak jelas dapat terjadi karena kontaminasi terutama area permukaan *well*/sumur gel poliakrilamid. Pita yang tidak muncul disebabkan oleh kemungkinan urutan basa nukleotida dari primer tersebut bukan merupakan komplemen dari basa nukleotida pada cetakan DNA target. Hal ini menyebabkan primer-primer tersebut tidak dapat mengamplifikasi fragmen DNA (Hartati et al. 2007).

## DAFTAR PUSTAKA


Asins, M.J., Herrero, R. and Navarro, L. 1995. Factors affecting Citrus tree isozyme-gene expression. 90, pp. 892–898.

Farida, Y. 2009. Metode Sidik Jari DNA Dengan REP-PCR. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA* (2), p. B-273-B-279.

Handoyo, D. and Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction ( PCR ). *Unitas* 9(1), pp. 17–29.

Harahap, M.R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Circuit: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro* 2(1), pp. 21–26.

Hartati, D., Rimbawanto, A., Taryono, Sulistyaningsih, E. and Widyatmoko, A. 2007. Pendugaan Keragaman Genetik di dalam dan Antar Provenan Pulai (Alstonia scholaris (L.) R. Br.) Menggunakan Penanda RAPD. *Pemuliaan Tanaman Hutan* 1(2), pp. 1–9.

Jatoi, S.A., Kikuchi, A., Yi, S.S., Naing, K.W., Yamanaka, S., Watanabe, J.A. and Watanabe, K.N. 2006. Use of Rice SSR Markers as RAPD Markers for Genetic Diversity Analysis in Zingiberaceae. 56, pp. 107–111.

Linarwati, M., Fathoni, A. and Minarsih, M.M. 2016. Studi Deskriptif Pelatihan Dan Pengembangan Sumberdaya Manusia Serta Penggunaan Metode Behavioral Event Interview Dalam Merekrut Karyawan Baru Di Bank Mega Cabang Kudus. *Journal of Management* 2(2), p. 1.

Mccouch, S.R. et al. 2002. Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice ( Oryza sativa L .). 9(6), pp. 199–207.

Slezak, P. and Waczulikova, I. 2011. Reproducibility and Repeatability. 60, pp. 203–205.

Suparningtyas, J.F., Pramudyawardhani, O.D., Purwoko, D. and Tajuddin, T. 2018. Analisis Filogenetik Beberapa Klon Karet dengan Marka AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). *Bioteknologi & Biosains Indonesia* 5(1), pp. 8–19.

Susanto, U. 2019. *Laporan perkembangan harvest plus program*. Subang: BBPADI dan CIAT/IFRI.

Yustinadewi, P.D., Yustiantara, P.S. and Narayani, I. 2018. Teknik Perancangan Primer untuk Sekuen Gen MDR-1 Varian 1199 pada Sampel Buffy Coat Pasien Anak dengan LLA. *Jurnal Metamorfosa* 5(1), pp. 105–111.