

Purifikasi DNA Manusia dengan Teknik *Kitchen Preparation* Menggunakan Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale Rosc*)

Mitayani Purwoko¹

¹Staf Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Palembang

Submitted: December 2017 |Accepted: January 2018 |Published: September 2018

Abstrak

Penelitian biologi molekuler di bidang kedokteran selalu melibatkan DNA atau RNA. Pemeriksaan DNA mengharuskan dilakukannya proses ekstraksi atau purifikasi DNA. Saat ini proses purifikasi yang tersedia adalah metode salting out; yang cukup rumit dan menggunakan banyak sekali reagen kimia, serta ekstraksi menggunakan kit dari pabrikan yang lebih simpel namun mahal. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan cara purifikasi DNA yang mudah dan murah sehingga dapat memudahkan penelitian dan pendidikan di bidang biologi molekuler. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. DNA manusia diperoleh dengan cara berkumur-kumur selama 1 menit dan air kumur tersebut ditampung di dalam wadah. DNA dipurifikasi menggunakan teknik kitchen preparation menggunakan deterjen 1%, enzim protease dari ekstrak jahe (*Zingiber officinale Rosc*), dan etanol. Hasil eksperimen menunjukkan adanya lapisan putih keruh pada bagian atas tabung reaksi dengan volume ekstrak jahe 2,3 ml, 4,6 ml, dan 6,9 ml. Hal ini menunjukkan bahwa ada proses penguraian DNA dari dalam inti sel dan presipitasi DNA ke arah lapisan etanol sehingga terbentuk benang-benang DNA berwarna putih keruh. Proses purifikasi DNA manusia dengan teknik kitchen preparation menggunakan sumber protease dari tanaman khas Indonesia dapat menghasilkan DNA yang dapat dinilai secara visual dalam tabung reaksi.

Kata kunci: purifikasi DNA, kitchen preparation, biologi molekuler

Abstract

Molecular biology researches in medicine usually using RNA and DNA as an object. Both of them first have to be purified before use. Today, there are some technique to do the DNA purification process, such as salting out and using industrial kit. The weakness of salting out is that this technique using a lot of chemical reagents and steps, and industrial kit is expensive. This study aimed to find an easy and inexpensive technique to purify the DNA for student. This was a true experimental study. Human DNA was obtained from swishing liquids in the mouth and spitting them into a collecting vessel. DNA was purified by kitchen preparation technique using 1% detergent solution, protease enzyme from ginger extract (*Zingiber officinale Rosc*), and ethanol. Experiment result showed that there were white layer inside the ethanol layer on the top of the reaction tube contained 2,3 ml; 4,6 ml, and 6,9 ml ginger extract. The DNA was degraded from the nucleus and precipitated in ethanol layer, showed as smooth white threads of DNA. Visualization of human DNA inside reaction tube can be done with kitchen preparation technique using protease enzyme from Indonesian herbal plant.

Keywords: DNA purification, kitchen preparation, molecular biology

Pendahuluan

Pemanfaatan ilmu biologi molekuler dalam dunia kedokteran dan kesehatan saat ini semakin banyak. Proses terjadinya penyakit serta tatalaksananya sudah mulai

memanfaatkan hasil penelitian biologi molekuler. Salah satu pemeriksaan biologi molekuler yang sering dilakukan adalah pemeriksaan gen dengan DNA.

DNA adalah *deoxyribose nucleic acid*, suatu senyawa yang membawa data genetik dalam diri seseorang. DNA terdapat di dalam inti sel (nukleus) sehingga perlu diekstraksi untuk dapat diperiksa.¹ Proses ekstrasi atau purifikasi DNA dapat dilakukan dengan kit yang diproduksi pabrik dengan cara yang lebih simpel.²

University Pennsylvania memberikan praktikum mengenai purifikasi DNA hanya dengan menggunakan 3 bahan yaitu deterjen, enzim protease alami, serta alkohol.³ Ketiga bahan ini sangat mudah ditemui di kehidupan sehari-hari sehingga murah untuk dipakai dalam praktikum.

Enzim protease merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian ikatan-ikatan peptida. Enzim ini dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Enzim protease berperan untuk memutuskan ikatan peptida di tempat gugus karboksil sehingga dibentuk peptida yang lebih kecil dan asam amino bebas.⁴ Salah satu tanaman khas Indonesia yang mengandung enzim protease adalah jahe, mengandung enzim protease zingibain.⁵

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc) adalah tanaman herba tahunan yang bernilai ekonomi tinggi. Berdasarkan bentuk, warna dan aroma rimpang serta komposisi kimianya dikenal tiga jenis jahe, yaitu jahe putih besar (gajah), jahe putih kecil (jahe emprit) dan jahe merah. Jahe putih besar mempunyai rimpang besar berbuku, berwarna putih kekuningan dengan diameter 8-8,5 cm, aroma kurang tajam,

tinggi dan panjang rimpang 6-11,3 cm dan 15-32 cm. Warna daun hijau muda, batang hijau muda dengan kadar minyak atsiri 0,8-2,8%. Jahe putih kecil (jahe emprit) mempunyai rimpang kecil berlapis-lapis, aroma tajam, berwarna putih kekuningan dengan diameter 3-4 cm, tinggi dan panjang rimpang 6-11 cm dan 6-32 cm. Warna daun hijau muda, batang hijau muda dengan kadar minyak atsiri 1,5-3,5%. Jahe merah mempunyai rimpang kecil berlapis-lapis, aroma sangat tajam, berwarna jingga muda sampai merah dengan diameter 4-4,5 cm, tinggi dan panjang rimpang 5-11 cm dan 12-13 cm. Warna daun hijau muda, batang hijau kemerahan dengan kadar minyak atsiri 2,8-3,9%.⁶

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas DNA yang dihasilkan dengan metode purifikasi menggunakan ekstrak jahe.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Penelitian telah dilakukan pada bulan November-Desember 2017 bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang, Sumatera Selatan. Populasi target adalah DNA manusia. Populasi terjangkau adalah DNA manusia yang mudah ditemui. Besar sampel yang diperlukan cukup 2 sampel DNA manusia. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah DNA yang dapat divisualisasi sebagai warna putih keruh di lapisan atas

tabung. Variabel bebas adalah penambahan enzim protease dari tanaman khas Indonesia. Dalam penelitian kali ini dipilih jahe (*Zingiber officinale* Rosc) sebagai sumber enzim protease.



Gambar 1. Rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc) (sumber: gambar pribadi)

Ekstrak jahe diperoleh dengan cara mengeringkan rimpang jahe yang telah dibersihkan dan dipotong setebal 1-2 mm dalam oven pada suhu 40°C. Rimpang jahe yang telah kering dihaluskan/ditumbuk untuk mendapatkan serbuk (simplisia) lalu dimerasasi dengan pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam pada temperatur kamar. Maserat yang diperoleh dikentalkan menggunakan penguap putar (*Rotary evaporator*) pada temperatur 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Sumber DNA diperoleh dengan cara meminta subjek penelitian berkumur-kumur dengan air bersih lalu air hasil kumur-kumur ditampung dalam wadah bersih lalu ditutup dan didiamkan selama 24 jam.

DNA dipurifikasi menggunakan metode *kitchen preparation*³ yaitu pertama-tama masukkan deterjen cair dengan konsentrasi 1% sebanyak 0,25 ml ke dalam tabung reaksi A, B, dan C. Kemudian masukkan sumber DNA berupa larutan kumur-kumur ke dalam tabung A, B, dan C hingga setengah ukuran tabung. Pemilihan volume ekstrak jahe sebagai pengganti enzim proteinase K mengikuti metode penelitian Maryam (2009)⁷ yaitu 2,3 ml ke dalam tabung A; 4,6 ml ke dalam tabung B dan 6,9 ml ke dalam tabung C. Tabung kemudian dibolak-balik hingga larutan tercampur rata lalu didiamkan selama 10 menit. Perlakan teteskan etanol 96% dingin di dinding masing-masing tabung hingga ketinggian lapisan etanol 2 cm dan terbentuk dua lapisan yang terpisah. Diamkan tabung selama 30 menit. Apabila muncul warna putih keruh di lapisan etanol berisi benang-benang DNA, maka benang-benang DNA diambil dan dimasukkan dalam tabung PCR 1,5 ml yang berisi etanol 70% selama 10 menit. Lalu Etanol 70% dibuang. Untuk penyimpanan DNA, ditambahkan TE 500 µl ke dalam tabung PCR yang berisi DNA.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan jahe mentah sebanyak 2,5 ons. Setelah melalui proses pengeringan dan evaporasi, dihasilkan 50 ml ekstrak jahe dan menghasilkan 1 gram ekstrak kental.

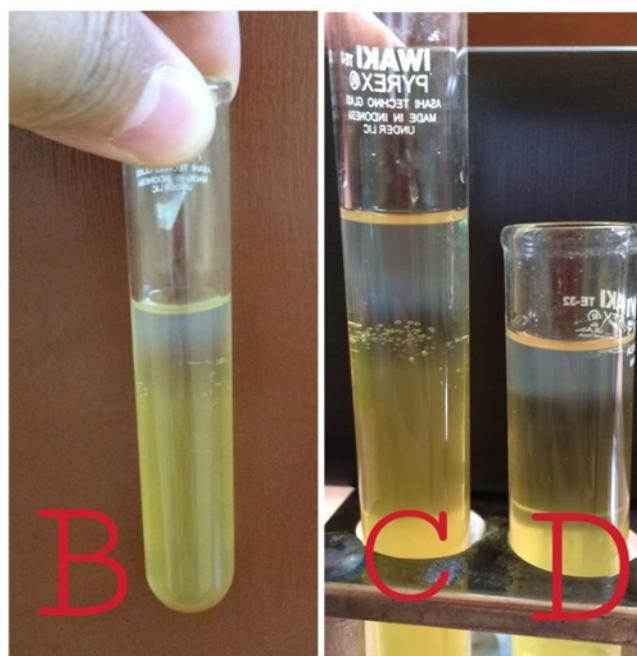


Gambar 2. Ekstrak kental jahe

Eksperimen menggunakan larutan ekstrak jahe konsentrasi 1% yang diperoleh dari 0,5 gram ekstrak jahe dicampur aquabidest steril sebanyak 50 ml. Penggunaan larutan ekstrak jahe 1% untuk ekstraksi DNA manusia yang digunakan sebanyak 2,3 ml, 4,6 ml dan 6,9 ml pada masing-masing tabung menghasilkan warna putih keruh di lapisan atas tabung.

DNA pada mahluk sel eukariota terdapat di dalam nukleus, yang melibatkan berbagai protein pengikat DNA.⁸ Penggunaan deterjen dalam proses purifikasi DNA manusia di sini berfungsi untuk membuka membran sel dan membran inti sel. Membran sel dan inti sel sebagian besar terdiri dari lipid, deterjen akan menghancurkan lipid pada membran sehingga DNA akan keluar dari nukleus dan masuk ke dalam larutan.³

Percobaan untuk mempurifikasi DNA dari sel tubuh manusia menggunakan enzim protease dari tanaman khas Indonesia dapat dinyatakan berhasil secara kualitatif. Meskipun enzim protease tidak diekstrak dengan teknik khusus enzim, namun sepertinya kandungan enzim protease dalam



Gambar 3. Hasil ekstraksi DNA manusia dengan ekstrak jahe. **Tabung B:** konsentrasi ekstrak jahe 1% dari ekstrak kental jahe; 2,3 ml; ada warna putih keruh di bagian atas tabung. **Tabung C:** konsentrasi ekstrak jahe 1% dari ekstrak kental jahe; 4,6 ml; ada warna putih keruh di bagian atas tabung. **Tabung D:** konsentrasi ekstrak jahe 1% dari ekstrak kental jahe; 6,9 ml; ada warna putih keruh di bagian atas tabung.

kedua tanaman ini tetap berfungsi dengan baik. Penambahan enzim protease ini bertujuan untuk menghancurkan protein yang mengikat DNA sehingga DNA dapat terurai.³

Penambahan ethanol dingin akan mengurangi solubilitas DNA sehingga DNA akan mengalami presipitasi ke arah lapisan ethanol, sementara lemak dan protein akan mengendap di dalam larutan (lapisan bawah).³

Asam nukleotida adalah polimer dari nukleotida. Asam nukleotida bersifat polar karena adanya atom oksigen dan atom nitrogen pada tulang penyangganya.⁹ Ethanol memiliki konstanta dielektrik yang lebih rendah daripada air sehingga Na⁺ dan PO₃⁻ lebih mudah berinteraksi. Hal ini akan membuat asam nukleat menjadi kurang hidrofilik dan mengalami presipitasi.

Simpulan

Proses purifikasi DNA manusia dengan teknik *kitchen preparation* menggunakan sumber protease dari tanaman khas Indonesia dapat menghasilkan DNA yang dapat dinilai secara visual. Saran untuk proses percobaan berikutnya sebaiknya sumber DNA manusia yang digunakan dalam volume yang lebih banyak serta konsentrasi deterjen yang digunakan sebaiknya ditingkatkan agar lebih banyak membran sel yang lisis sehingga benang-benang DNA lebih banyak terbentuk.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat atas pemberian hibah penelitian internal serta kepada pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang atas pemberian izin melaksanakan penelitian di laboratorium biomedik.

Daftar Pustaka

1. Darmono. 2012. Toksikologi Genetik: Pengaruh, Penyebab dan Akibat Terjadinya Penyakit Gangguan Keturunan. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
2. Tan SC dan Yiap C. DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2009; article ID 574398.
3. Waldron I, Spindler L, dan Doherty J. 2016. DNA. Pennsylvania: University Pennsylvania.
4. Iswari RS & A Yuniaستuti. 2006. Biokimia. Yogyakarta: Graha Ilmu.
5. Nafi A, Ling FH, Bakar J, dan Ghazali HM. 2014. Partial characterization of an enzymatic extract from Bentong Ginger (*Zingiber officinale* var. Bentong). Molecules, 19, 12336-12348.
6. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. 2008. Teknologi Budidaya Jahe. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
7. Maryam S. 2009. Ekstrak enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas sativus Schult.*) dan pemanfaatannya pada isolasi DNA. (Skripsi). Semarang : Universitas Negeri Semarang.
8. Wilson K dan Walker J. 2010. Principles and techniques of biochemistry and molecular biology. Seventh edition. New York: Cambridge University Press.

9. Zumbo, P. Ethanol Precipitation. Weill Cornell Medical College, Laboratory of Christopher E. Mason, Ph.D, Department of Physiology and Biophysics. [diakses pada http://physiology.med.cornell.edu/faculty/mason/lab/zumbo/files/ETHANOL_PRECIPITATION.pdf tanggal 08 Januari 2018].