

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Maleo adalah aves endemik Sulawesi yang pada tahun-tahun belakangan mengalami penurunan drastis populasi; apabila jumlah maleo semakin menurun, akan terjadi kepunahan spesies tetapi hal ini dapat dicegah dengan konservasi dan salah satu bentuk konservasi yang penting untuk dilakukan adalah konservasi genetik (Widyatmoko, 2020); yang berarti diperlukan adanya analisis DNA. Analisis DNA memerlukan sumber DNA yang baik sehingga menghasilkan DNA dengan kualitas yang baik dan hasil analisis yang akurat. DNA yang baik adalah DNA yang fungsional, artinya perintah yang dikode pada *sequence* DNA mampu ditranslasi dengan baik. (Murakami, 2019).

Isolasi DNA adalah tahap penting sebelum dilakukannya analisis DNA seperti *barcoding*, *sequencing* ataupun *sexing*. Sampel yang terkontaminasi akan mempersulit isolasi DNA, selain itu, DNA yang didapat tidak akan memiliki kualitas yang baik (Walker dan Rapley, 2008). Kualitas DNA dapat diukur melalui rasio absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm serta kualitas pita (*band*) hasil elektroforesis. Rasio 260/280 DNA agar terkualifikasi “murni” adalah 1,8–2 sementara pita hasil elektroforesis harus menghasilkan pita yang jelas untuk dibaca. Semakin rendah atau tinggi dari rentang ini, menunjukkan adanya kontaminasi RNA atau protein tetapi rasio 260/280 hanya menunjukkan kualitas DNA murni atau tidak sementara

degradasi DNA dapat dilihat dari hasil elektroforesis (Maftuchah *et al.*, 2014).

Sumber DNA dari hewan antara lain dari: darah, rambut, bulu, jaringan lunak, membran cangkang telur, tulang, gigi, saliva hingga sperma. Sumber DNA yang terkontaminasi akan menyebabkan hasil analisis DNA tidak akurat. Tidak akuratnya analisis DNA juga dapat disebabkan karena metode isolasi yang kurang sesuai (Walker dan Rapley, 2008). Apabila DNA suatu organisme terdegradasi, bermutasi atau tidak lengkap sehingga menyebabkan penuaan, malformasi bentuk, penyakit autoimun, kanker hingga kematian sel. Sementara DNA dengan kualitas yang baik adalah DNA yang setelah diisolasi memiliki rasio A260/280 yang bagus (Murakami, 2019).

Adanya kemajuan teknologi dalam analisis molekuler berarti berkembangnya jenis analisis yang dapat dilakukan. Salah satu contoh kajian Maleo dengan pendekatan molekuler yang telah dilakukan adalah analisis filogeni (Qiamp *DNA blood Mini Kit*) (Budiarsa *et al.*, 2010). Selain itu, telah dilakukan juga analisis keanekaragaman genetik berdasar mtDNA (gSYNCTM *DNA Extraction Kit*) (Saputra dan Yuda, 2020) dan *sexing* (gSYNCTM *DNA Extraction Kit*) (Yuda dan Saputra, 2021).

Seiring banyaknya variasi jenis sampel, metode isolasi DNA menjadi lebih beragam. *Catationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) merupakan deterjen yang digunakan untuk melisiskan

dinding sel tanaman sehingga DNA tanaman dapat terisolasi tetapi seiring bervariasinya sampel dan kebutuhan akan metode isolasi yang efektif. CTAB dimodifikasi untuk mengisolasi DNA dari berbagai macam sampel tetapi masih memberikan hasil yang bervariasi tergantung sampel yang diisolasi (Kranzfelder *et al.*, 2016; Mirimin dan Roodt-Wilding, 2015). gSYNC™ *DNA Extraction Kit* adalah alat isolasi DNA komersil yang banyak digunakan karena fleksibilitasnya dalam isolasi berbagai sampel; hasil yang diberikan juga konsisten berada pada kriteria DNA dengan kualitas yang baik saat digunakan untuk isolasi DNA aves (Pratomo *et al.*, 2021; Purwaningrum *et al.*, 2019; Yuda *et al.*, 2020). *Kit* ini menggunakan proteinase K dan garam *chaotropic* untuk melisiskan sel dan mendegradasi protein sehingga DNA dapat berikatan dengan matriks benang-benang kaca pada kolom filter (Harini *et al.*, 2019).

Metode CTAB yang dilakukan berdasar pada penelitian Arseneau *et al.* (2017) yang memodifikasi metode CTAB yang pada umumnya digunakan untuk isolasi DNA tanaman dan diubah sehingga dapat digunakan untuk isolasi DNA moluska. gSYNC™ *DNA Extraction Kit* merupakan alat yang umum digunakan untuk isolasi DNA karena murah, cepat dan ramah lingkungan.

Penelitian mengenai Maleo telah banyak dilakukan; contohnya *sexing* (Sulandri dan Zein, 2012), keanekaragaman genetik berdasar mtDNA (Saputra *et al.*, 2018) serta filogeni Megapodiidae berdasar

sekuen DNA mitokondria dan nukleus (Birks dan Edwards, 2002) tetapi mengenai metode isolasi DNA dari membran cangkang telur yang terkontaminasi belum dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui metode isolasi DNA mana yang paling baik untuk sampel cangkang telur maleo yang kotor karena tertimbun dalam tanah untuk waktu yang lama serta tidak lagi segar (Yuda dan Saputra, 2021).

Maleo mengubur telurnya dalam tanah sampai menetas sehingga setelah anakan maleo menetas, cangkang telur akan terurai oleh bakteri pengurai dalam tanah. Terurainya cangkang telur maleo menyebabkan terurainya juga materi genetik di dalamnya sehingga saat diisolasi DNA yang didapat akan terbatas. Melihat semakin menurunnya populasi maleo dan analisis DNA dari membran cangkang telur adalah teknik sampling yang tidak menyakiti maleo, metode isolasi yang cocok untuk kebutuhan ini harus dilakukan.

B. Perumusan Masalah

Diantara CTAB dan gSYNC™ *DNA Extraction Kit*, metode mana yang menghasilkan kualitas DNA baik untuk analisis molekuler seperti *barcoding* ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui metode mana antara gSYNC™ *DNA Extraction Kit* dan modifikasi CTAB yang hasil isolasinya layak untuk analisis molekuler.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberi informasi pada pembaca terkait metode isolasi DNA yang tepat untuk sampel membran cangkang telur maleo yang kotor sehingga dapat membantu upaya konservasi maleo.

