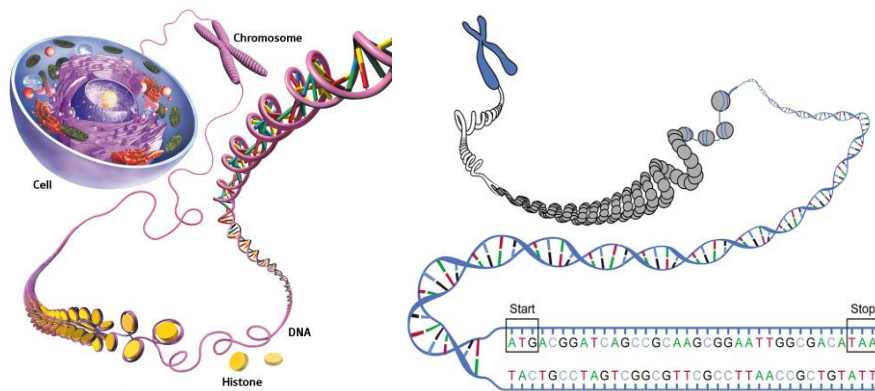


	KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN UNIVERSITAS LAMPUNG Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1, Gedong Meneng, Bandarlampung		
	PANDUAN PRAKTIKUM GENETIKA 1. EKSTRAKSI DNA BUAH		
No. Dokumen	No. Revisi	Halaman	Tanggal Terbit 1 November 2020
Mata Kuliah: Genetika	Semester: 4 SKS: 3 (2-1) Kode MK: 619204/ 620202		
Program Studi: Pendidikan Biologi	Dosen Penanggungjawab : Dr. Dewi Lengkana, M.Sc. Dosen Anggota : Ismi Rakhmawati, M.Pd.		
Capaian Pembelajaran Mata kuliah (CPMK)	1. Mahasiswa mampu menjelaskan genetika dan keterkaitannya dengan ilmu lain. 2. Mahasiswa mampu menjelaskan ekspresi gen, mutasi, dan pola pewarisan sifat. 3. Mahasiswa mampu mengaplikasikan teori genetika menggunakan perhitungan teori kemungkinan. 4. Mahasiswa mampu merumuskan masalah kelainan genetika, menemukan penyebabnya, dan mencari solusi terhadap permasalahan genetika. 5. Mahasiswa mampu mempresentasikan hasil diskusi genetika. 6. Mahasiswa mampu membandingkan variabilitas genetika makhluk hidup		
Tujuan Praktikum	1. Memisahkan DNA dari 2 jenis buah 2. Mengamati endapan dari proses ekstraksi 3. Mengetahui keaktifan detergen dalam proses ekstraksi		

A. Dasar Teori

Deoxyribonucleic acid atau DNA merupakan senyawa kimia yang paling penting dalam makhluk hidup. DNA merupakan senyawa yang mengandung informasi genetik makhluk hidup dari satu generasi ke generasi selanjutnya. Keseluruhan DNA dalam suatu sel akan membentuk genom. Genom meliputi bagian gen yang fungsional maupun non-fungsional dalam sel organisme. DNA genom meliputi gen dan intergen (Suryo, 2004).

DNA adalah asam nukleat yang mengandung materi genetik dan berfungsi untuk mengatur perkembangan biologis seluruh bentuk kehidupan secara seluler. DNA terdapat pada nukleus, mitokondria, dan kloroplas. Perbedaan ketiganya adalah DNA nukleus berbentuk linier dan berasosiasi sangat erat dengan protein histon, sedangkan DNA mitokondria dan kloroplas berbentuk sirkular dan tidak berasosiasi dengan protein histon. Selain itu DNA mitokondria dan kloroplas memiliki ciri khas, yaitu hanya mewariskan sifat-sifat yang berasal dari garis ibu. Sedangkan DNA nukleus memiliki pola pewarisan sifat dari kedua orangtua. Dilihat dari organismenya, struktur DNA prokariot tidak memiliki protein histon dan berbentuk sirkular, sedangkan DNA eukariot berbentuk linier dan memiliki protein histon (Kirsman, 2010).



Gambar 1. Kromosom dan Untai DNA

Isolasi DNA merupakan langkah mempelajari DNA. Salah satu prinsip isolasi DNA yaitu dengan sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada di bagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada pada bagian atas tabung. Hasil sentrifugasi akan menunjukkan dua macam fraksi yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah (Rachmat, 2012). Hasil yang didapatkan nantinya akan sangat dipengaruhi oleh kualitas, kuantitas, dan integritas DNA yang didapatkan dari proses isolasi. Apabila kualitas DNA yang didapatkan bagus dan tidak terkontaminasi, maka hasil dari PCR akan menunjukkan pola pita yang jelas. Hal ini merupakan tahap awal yang sangat menentukan dalam kegiatan penelitian biologi molekuler. Menurut Clark (1997), secara umum prosedur ekstraksi untuk isolasi DNA yang baik harus memenuhi empat kriteria utama, yaitu:

1. Harus bisa menghasilkan DNA yang murni. Hal ini dimaksudkan agar DNA dapat dianalisis atau digunakan untuk proses selanjutnya. Misalnya untuk analisa RFLP,

harus digunakan DNA yang cukup murni untuk bisa dipotong oleh restriction endonuclease dan ditransfer ke membrane untuk analisis Southern. Untuk analisis polymerase chain reaction (PCR) ekstrak DNA harus tidak mengandung kontaminan DNA yang dapat mengganggu PCR.

2. DNA harus utuh untuk memberikan pola migrasi yang akurat pada gel electrophoresis.
3. DNA yang dihasilkan harus mencukupi.
4. Prosedur yang digunakan harus cepat, sederhana dan murah, dan jika memungkinkan bisa dihindari penggunaan bahan kimia yang berbahaya.

Ada tiga langkah utama dalam ekstraksi DNA, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA.

1. Lisis dapat dilakukan secara mekanik misalnya dengan penggerusan atau penumbukan maupun secara kimiawi misalnya dengan penambahan senyawa buffer kationik seperti deterjen. Larutan deterjen berfungsi menurunkan tegangan permukaan cairan dan melarutkan lipid sehingga membrane sel mengalami degradasi, dan organel-organel di dalamnya dapat keluar dari sel.
2. Pemisahan DNA dari pengotor DNA yang tercampur dengan polisakarida, protein, dan pengotor lainnya perlu dibersihkan. Pembersihan DNA dilakukan dengan ekstraksi menggunakan larutan CI (dalam praktikum ini menggunakan garam) dan sentrifugasi. Larutan kloroform dapat menghilangkan kontaminasi akibat polisakarida sedangkan sentrifugasi akan memisahkan molekul-molekul berdasarkan bobot molekulnya. Larutan CI yang merupakan pelarut organik dapat menghancurkan dan mengendapkan protein.
3. Pemurnian DNA Pemurnian DNA biasanya dilakukan dengan alkohol (etanol dan isopropanol). Larutan-larutan tersebut dapat mengendapkan DNA sedangkan kontaminan yang lain akan tetap larut.

B. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam kegiatan praktikum ekstraksi DNA adalah sebagai berikut:

Alat:

1. Sendok Teh
2. Plastik dengan klem (*zipper*)
3. Kertas saring
4. Gelas beker

Bahan:

1. Buah stroberi, pisang, atau pepaya (secukupnya).
2. Sabun cuci piring
3. Alkohol (etanol atau isopropanol)
4. Aquades
5. Garam dapur

C. Prosedur Kerja

1. Masukkan masing-masing buah secukupnya (buah dingin lebih baik) ke dalam plastik berklemp. Haluskan buah dengan cara memukul plastik. Hati-hati jangan sampai menyobek plastik.
2. Buat larutan lisis dari dua sendok teh sabun cuci piring dan satu sendok teh garam yang dilarutkan dalam 100 mL aquades.
3. Masukkan larutan lisis yang sudah dibuat ke dalam plastik berisi buah yang sudah dihaluskan. Kemudian permukaan plastik ditekan merata agar larutan lisis bercampur rata dengan buah yang sudah dihaluskan. Jangan sampai larutan dalam kantung plastik berbusa.
4. Tuangkan isi plastik tersebut ke gelas beker yang telah dilapisi dengan kertas saring. Hati-hati jangan sampai kotoran ikut masuk ke dalam gelas beker.
5. Tuangkan alkohol dingin ke dalam gelas beker secukupnya sampai terlihat terjadi pemisahan materi dalam gelas beker.
6. Jika berhasil, maka DNA akan menggumpal/mengendap di atas permukaan gelas beker.

D. Pertanyaan Diskusi

1. Jelaskan secara singkat sejarah perkembangan DNA.
2. Apa yang dimaksud dengan Ekstraksi DNA?
3. Mengapa Ekstraksi DNA diperlukan?
4. Mengapa saat pencampuran larutan lisis dengan buah yang sudah dihaluskan tidak boleh ada busa?

E. Format Laporan

Tuliskan laporan praktikum genetika dalam 2-5 halaman yang tersusun dari beberapa bagian yaitu:

1. Identitas. Tuliskan nama, NPM, kelas, nama MK, judul praktikum.
2. Pendahuluan. Tuliskan latar belakang Anda melaksanakan praktikum ini, manfaat dan tujuan praktikum.
3. Metode. Tuliskan cara kerja praktikum dalam bentuk diagram alir/bagan yang diberi keterangan
4. Hasil dan Pembahasan. Tuliskan hasil/data praktikum dalam bentuk tabel yang dilengkapi dengan foto hasil praktikum. Lengkapi data dengan diagram persilangan (jika ada). Tuliskan pembahasan yang bersumber dari referensi buku, artikel penelitian dari jurnal, atau website (*credible*). Anda juga harus menuliskan argumen Anda terhadap hasil penelitian yang dihubungkan dengan referensi.
5. Daftar Pustaka. Aturan penulisan APA reference. Minimal referensi yang dituliskan 2 buku, 2 artikel, 2 website.