

## Teknik Isolasi DNA Total pada Tumbuhan Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus*) dari Provinsi Riau

SITI KHUMAIROH<sup>1\*</sup>, DEWI INDRIYANI ROSLIM<sup>2</sup>, HERMAN<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau  
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Riau, Indonesia

<sup>1</sup>E-mail: [Sitikhumairoh.meo@gmail.com](mailto:Sitikhumairoh.meo@gmail.com)

### ABSTRAK

Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus*) merupakan tumbuhan endemik daerah paparan banjir provinsi Riau. Tumbuhan *E. floribundus* berperan penting menjaga keseimbangan ekosistem paparan banjir. Tumbuhan ini dapat dikonsumsi, digunakan sebagai obat, pakan ternak dan kayu bakar. Informasi molekuler spesies endemik paparan banjir Provinsi Riau masih sangat terbatas. Tahapan awal analisis molekuler adalah isolasi DNA. Penelitian ini bertujuan mengisolasi DNA tumbuhan *E. floribundus* yang berguna untuk analisis selanjutnya. Metode penelitian meliputi pengambilan sampel, isolasi DNA total dan elektroforesis. Isolasi DNA dilakukan mengikuti Shaghai- Maroof *et al.*, Porebski *et al.*, dan DNAeasy plant mini kit from Qiagen.. Hasil menunjukkan bahwa metode Porebski *et al.* merupakan metode yang tepat untuk isolasi DNA dari *E. floribundus*. Metode yang digunakan ini, menghasilkan DNA utuh ditandai dengan pita yang tebal.

Kata Kunci : DNA, *Elaeocarpus floribundus*, elektroforesis, Isolasi, Paparan banjir

### ABSTRACT

Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus*) is a floodplain endemic plant of Riau Province, Indonesia that play an important role in stabilizing floodplain ecosystem. This plant is edible, and can be used for medicinal plant, fodder, and for firewood. Information of floodplain plants is very limited. The early stages of molecular analysis is DNA isolation. This study aimed to isolate the DNA of *E. floribundus* that can be used to analysis in future studies. Methods included sampling, total DNA isolation, and electrophoresis. The DNA isolation were conducted following Shaghai- Maroof *et al.*, Porebski *et al.*, dan DNAeasy plant mini kit from Qiagen.. The result showed that method of Porebski *et al.* was appropriate to isolate the DNA of *E. floribundus*. Using this method, the DNA was intact and showed by thick band.

Key words: DNA, *Elaeocarpus floribundus*, electrophoresis, Isolation, Floodplain of Riau

### PENDAHULUAN

Provinsi Riau merupakan salah satu kawasan yang memiliki sungai paparan banjir (*flood plain*). Pola penggenangan (*flood*) di sungai rawa banjir bersifat unik dan spesifik, serta dipengaruhi oleh curah hujan. Hidrodinamika dan morfodinamika pada sungai rawa banjir bersifat dinamis. Hal tersebut menimbulkan keanekaragaman pada tumbuh-tumbuhan maupun hewan dengan kemampuan beradaptasi yang spesifik (spesies endemik) (Andersen 2003; Persoon & Weerd 2006; Manral *et al.* 2012; Pal 2015).

Tumbuh-tumbuhan (vegetasi) paparan banjir berperan penting menjaga keseimbangan ekosistem, sirkulasi aliran sungai, dan menjaga kualitas air (Vegetation research 2001). Sistem perakaran vegetasi mampu mencegah erosi, menahan derasnya aliran sungai dan mencegah luapan air sungai. Sistem riparian menyediakan nutrisi dan menciptakan habitat yang sesuai bagi ikan dan organisme akuatik (USDA 1996). Secara struktural keberadaan vegetasi ini menciptakan habitat yang kompleks.

Menurut Elvyra & Yus (2010) terdapat beragam vegetasi di sekitar sungai rawa banjiran di Provinsi Riau. Salah satu vegetasi penyusun sistem riparian di Danau Kejuit, Sungai Kampar, Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan adalah tumbuhan Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus*). Tumbuhan endemik ini berhabitus pohon, tumbuh di sekitar sungai paparan banjiran (Brahma *et al.* 2013; Rahman & Vacik 2015). Keberadaan tumbuhan ini menciptakan ekosistem yang seimbang bagi paparan banjiran. Tumbuhan ini dapat menjaga kelestarian hidup ikan, yakni sebagai tempat berlindung (*refuge*), pemijahan (*spawning*), dan tempat pengasuhan (*nursery*) bagi ikan (Elvyra & Yus 2010). Selain itu, Tuntun Angin mengandung vitamin dan antioksidan yang berguna dalam pengobatan berbagai penyakit (Khomdram *et al.* 2014; Rahman & Vacik 2015).

Informasi molekuler di *GenBank* mengenai tumbuhan Tuntun Angin daerah Paparan Banjiran Provinsi Riau masih sangat terbatas. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan tahapan awal analisis molekuler, yakni melalui isolasi DNA. Isolasi DNA adalah tahap terpenting dalam analisis molekuler. DNA memiliki struktur *double-helix* yang terdiri dari daerah fungsional (*coding*) dan non-fungsional (*non-coding*). Daerah ini memuat berbagai informasi penting. Seiring dengan perkembangan teknologi dalam bidang biologi, penggunaan DNA semakin sering diterapkan untuk menganalisis dan menyelesaikan berbagai permasalahan (Williams 2007). Keberadaan DNA total dapat dideteksi dengan teknik elektroforesis. Teknik elektroforesis merupakan suatu teknik yang bekerja di pengaruhi medan listrik dalam mengukur perpindahan dan pergerakan partikel bermuatan (Zein & Prawiradilaga 2013).

Pada penelitian dilakukan isolasi DNA dari tumbuhan Tuntun Angin yang berasal dari Danau Kejuit, Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau. Hasil ini diharapkan dapat dipergunakan untuk proses selanjutnya dalam analisis molekuler pada Tuntun Angin sehingga memberikan informasi penting untuk melengkapi *database* di *genBank* dari paparan banjiran Riau.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2015- Februari 2016. Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Sampel daun Tuntun Angin diambil dari Danau Kejuit, Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau .

**Teknik isolasi DNA Tuntun Angin (*E. floribundus*).** Isolasi metode Sanghai-marroof *et al.* (1894), sampel daun sebanyak 1 gram dipotong halus dan digerus menggunakan nitrogen cair didalam mortar. Hasil gerusan dimasukkan ke tabung mikro steril ukuran 50 ml. Ditambahkan 1 volume buffer CTAB (dH<sub>2</sub>O; 1 M Tris-HCl pH 9; 5 M NaCl; 0,5 M EDTA pH 8; 14 M β-mercaptoetanol; 2 % CTAB) yang telah dipanaskan pada suhu 65<sup>0</sup>C dan PVP sebanyak 0,1 gram. Tabung yang berisi campuran dibolak-balik agar homogen. Tabung dimasukkan ke *waterbath* lalu dilakukan inkubasi selama 60-90 menit pada suhu 65<sup>0</sup>C, selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifus menghasilkan dua lapisan, lapisan atas yang disebut dengan supernatan (fase cair) dan lapisan bawah yang disebut pelet (fase padat). Supernatan dipindahkan dengan pipet mikro 1000 µl ke tabung mikro baru steril yang berukuran 1,5 ml. Tabung steril yang berisi supernatan, ditambahkan 1 volume klorofom dan disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung mikro baru steril berukuran 1,5 ml. Selanjutnya ditambahkan 1 volume isopropanol lalu dibolak-balik hingga terbentuk benang-benang DNA. Tabung selanjutnya disentrifus kembali selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Bagian supernatan dari hasil sentrifus ini dibuang. Pelet dikeringkan pada suhu 37<sup>0</sup> C. Selanjutnya pelet yang mengandung DNA ditambahkan 500 µL TE (pH 8) lalu dibiarkan selama semalam untuk memaksimalkan pelarutan DNA. Perbesar volume DNA dengan cara ditambahkan 200 µl TE, lalu tambahkan dengan 700 µl fenol disentrifus selama 10 menit dengan 4000 rpm. Supernatan dari hasil sentrifus diambil, dipindahkan ke tabung baru steril yang berukuran 1,5 ml. Ditambahkan dengan 1 volume isopropanol dan disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan dari hasil sentrifus dibuang dan pelet dikeringkan pada suhu 37<sup>0</sup>C. Setelah itu pelet dibilas dengan 500 µl etanol 70% dan dikeringkan. DNA yang telah diperoleh dilarutkan kembali dengan penambahan buffer TE 100 µl. DNA stok disimpan pada suhu -20<sup>0</sup> C (*freezer*). Dan DNA kerja disimpan di dalam kulkas pada suhu 4<sup>0</sup>C.

**Isolasi DNA menggunakan *DNAeasy plant mini kit* (Qiagen 2012),** proses isolasi DNA total sesuai instruksi pabrik. Sampel daun sebanyak 0,1 gram dipotong kecil-kecil, selanjutnya digerus hingga berbentuk serbuk dengan menggunakan nitrogen cair. Serbuk daun dimasukkan kedalam tabung steril berukuran 1,5 ml, selanjutnya ditambahkan buffer AP1 sebanyak 400 µl, divortex selama 10 detik dan diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C. Tabung steril dibolak-balik agar homogen. Selanjutnya ditambahkan buffer

P3 sebanyak 130 µl dan diinkubasi selama 5 menit di dalam es. Selanjutnya tabung disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan hasil sentrifus dipindahkan ke dalam QIAshredder mini spin column, kembali dilakukan disentrifus selama 5 menit pada kecepatan 4000 rpm. Supernatan dipindahkan ke tabung 1,5 ml dan ditambahkan 1,5 volume buffer AW1. Selanjutnya supernatan dipindahkan ke tabung *DNAeasy mini spin column* dan disentrifus selama 5 menit pada kecepatan 400 rpm. Supernatan didalam *collection tube* dibuang, langkah ini kembali diulangi pada larutan hasil isolasi DNA *E.floribundus* yang tersisa. Kemudian *DNAeasy mini spin column* dipindahkan ke *collection tube* 2 ml, ditambahkan dengan buffer AW2 sebanyak 500 µl dan disentrifus selama 3 menit pada kecepatan 4000 rpm. Selanjutnya *DNAeasy mini spin column* dipindahkan ke tabung 1,5 ml, lalu ditambahkan dengan buffer AE sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 6 menit. Kemudian tabung disentrifus selama 5 menit pada kecepatan 4000 rpm. Larutan hasil sentrifus merupakan DNA total *E.floribundus* elusi 1. Penambahan buffer AE kembali dilakukan untuk memperoleh elusi 2. DNA total *E.floribundus* yang diperoleh disimpan pada suhu -20<sup>0</sup> C dan DNA kerja disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C.

**Isolasi DNA metode Porebski et al. (1997)**, dilakukan dengan serangkaian modifikasi *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (Porebski et al. 1997). Pada CTAB ditambahkan PVP sebanyak 0,1 gram. Modifikasi pada klorofom, yakni CIAA (Klorofom:Isoamil-alkohol= 24:1), lalu dihomogenkan dengan bolak-balik tabung selama 10 menit. Campuran disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung mikro baru steril berukuran 1,5 ml. Langkah ini kembali diulangi (ekstraksi dengan CIAA) sebanyak 2 kali.

**Elektroforesis.** Keberhasilan proses isolasi dan keutuhan DNA total dideteksi dan dicek melalui elektroforesis (*Fisons model fec 360, large horizontal gel system*) pada 1,2 % gel agarosa dalam 1x buffer TBE (Tris-Borate-EDTA pH 8.0), tegangan 65 volt. Gel hasil elektroforesis diwarnai dengan 5 µg/ml etidium bromida, visualisasi dibawah sinar *UV transilluminator*. Keberhasilan dari isolasi DNA total ditunjukkan dengan adanya pita (*band*) yang jelas dan utuh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi DNA total pada tumbuhan endemik paparan banjir yaitu Tuntun Angin. Pada penelitian ini Isolasi DNA total pada tumbuhan ini telah dilakukan dengan beberapa metode isolasi, diantaranya Saghai- Maroof et al. (1984), *DNAeasy Plant Mini Kits* ( Qiagen 2012) dan Porebski et al. (1997). Proses isolasi DNA menggunakan sesuai Saghai-Maroof et al. (1984) tidak berhasil memperoleh DNA. Pengecekan dengan elektroforesis tidak ditemukan adanya pita DNA. Kondisi yang teramati selama proses isolasi adalah adanya polisakarida dan polifenol dalam jumlah banyak. Larutan DNA yang dihasilkan berlendir dan berwarna kekuning-kuningan. Walaupun metode ini telah berhasil diterapkan untuk mengisolasi DNA total dari banyak tanaman, seperti gandum (Shaghai-Maroof et al. 1984), *Manihot esculenta* Crantz. (Roslim et al. 2016) dan padi (*Oryza sativa*) (Nugraha et al. 2014), tetapi metode ini kurang tepat dilakukan pada Tuntun Angin yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang tinggi. Spesies *Elaeocarpus* pada umumnya banyak mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, tannin, triterpen, asam lemak, derivat asam ellagic dan senyawa sitotoksi. Jenis *Elaeocarpus* yang lain seperti *E. ganitrus* mengandung fitokimia berupa pitosterol, lemak, alkaloid, flavonoid, karbohidrat, protein, tannin, glikosida, asam galat ellagic, quercetin dan indolizidin. Selain itu, tumbuhan ini juga mengandung beberapa jenis alkaloid seperti isoelaecarpilin, elaeocarpilin, dan asam lemak, yaitu palmitat dan linoleanat (Joshi & Jain 2014; Hardainiyani et al. 2015). Geetha et al. (2015) melaporkan bahwa pada *E. Serratus* L. juga mengandung banyak senyawa bioaktif seperti n-dodesil, n-Pentadecanol, n-Pentadecanol, n-oktanol dan hexadecanol.

Isolasi sesuai *DNAeasy Plant Mini Kits* dengan petunjuk pabrik, juga tidak berhasil mendapatkan DNA total Tuntun Angin. Menurut Farnoosh et al. (2013) isolasi DNA menggunakan kit memiliki kelebihan dan kekurangan. Penggunaan kit dapat mempersingkat waktu karena memiliki prosedur pengerjaan yang lebih praktis. Kekurangannya adalah harga komponen kit ini relatif lebih mahal. Selain itu pada metode menggunakan kit, volume dan konsentrasi zat yang digunakan telah ditentukan, sehingga sulit untuk memodifikasi atau merubah parameter. Ini salah satu penyebab kegagalan isolasi DNA dengan metode kit. Volume dan komponen kit belum tepat dan sesuai untuk mengisolasi DNA total dari Tuntun Angin .

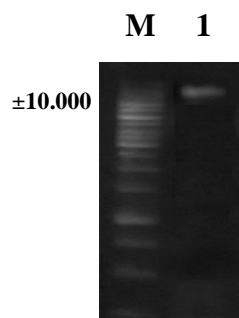
Isolasi DNA pada Tuntun Angin sesuai prosedur yang dikembangkan oleh Porebski et al. (1997), yaitu dengan menggunakan buffer *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) dan PVP (*Polyvinyl pyrrolidone*) berhasil mendapatkan DNA. PVP (*Polyvinyl pyrrolidone*) merupakan senyawa polimer yang berguna menghilangkan polifenol pada tumbuhan. Polifenol pada tumbuhan

sangat menghambat proses isolasi dan amplifikasi DNA. Menurut Arif *et al.* (2010) senyawa polifenol dapat mengganggu kerja beberapa enzim, seperti enzim ligase, polimerase, dan endonuklease. Senyawa ini dapat menghambat proses PCR karena polifenol dapat mengikat DNA secara kovalen ketika teroksidasi dan menyebabkan warna kecokelatan pada DNA. Hal tersebut dapat diatasi oleh senyawa PVP yang akan membentuk ikatan hidrogen kompleks dengan senyawa polifenol dan selanjutnya dengan bantuan sentrifugasi senyawa polifenol terpisah dari DNA (Toha 2001; Maliyikal 1992). Selain itu penambahan PVP ini dapat mencegah fenolasi atau terbentuknya warna cokelat.

Larutan CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) adalah larutan dengan komponen dan konsentrasi garam tinggi yang mampu menghilangkan polisakarida. Polisakarida merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Kontaminasi senyawa polisakarida, sangat sulit untuk dihilangkan. Menurut Asem *et al.* (2015) dan Pandey dan Tamta (2015) CTAB dapat digunakan untuk mendapatkan DNA berkualitas tinggi pada tumbuhan yang banyak mengandung polisakarida dan senyawa polifenol.

Pada penelitian ini dilakukan sedikit modifikasi Porebski *et al.* (1997) yaitu; pada penyimpanan sampel, bahan ekstraksi DNA pada proses presipitasi, dan pencucian DNA. Pada metode Porebski sampel yang digunakan dibekukan dengan nitrogen cair dan disimpan dalam  $-70^{\circ}\text{C}$ , dan komponen buffer CTAB yang sama dengan penambahan 5M NaCl dan pelarut etanol. Pada penelitian ini sampel disimpan di lemari pendingin tanpa menggunakan nitrogen cair. Penyimpanan sampel dengan cara ini, dianggap telah mampu mempertahankan kesegaran sampel hingga proses isolasi DNA. Komponen buffer CTAB yang digunakan terdiri dari 100 mM Tris, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8,0, 2% CTAB, 0,2%  $\beta$ -mercaptoetanol). Komponen CTAB ini berperan penting dalam isolasi DNA. Menurut Sahu *et al.* (2012) penambahan konsentrasi NaCl di atas 0,5 M dapat menghilangkan polisakarida. Selain itu reagen  $\beta$ -Mercaptoethanol pada buffer CTAB berfungsi sebagai deterjen dan bersifat toksik serta mampu menghilangkan polifenol. Peningkatan konsentrasi zat tersebut dapat menghasilkan DNA yang murni dengan kualitas yang baik. Kloroform dan Isoamil-alkohol berperan dalam proses deproteinisasi. Perpaduan kedua zat sangat efektif dalam pemurnian DNA. Kloroform merupakan pelarut organik sedangkan isoamil-alkohol merupakan *emulsifier* (zat pengemulsi) yang berfungsi untuk menjaga kestabilan, antara kloroform dan air pada proses ekstraksi DNA. Kloroform dan air dapat bercampur ketika disentrifugasi sehingga DNA yang diperoleh lebih murni. Penambahan pelarut CIAA menyebabkan DNA berada pada fase cair (*aqueous*) dan dapat menghilangkan sisa larutan CTAB yang masih terdapat pada DNA (Surzycky 2003).

Isolasi DNA menggunakan metode Porebski *et al.* (1997) telah berhasil memperoleh DNA total tumbuhan Tuntun Angin (Gambar 1). Metode Porebski *et al.* (1997) merupakan metode yang tepat untuk mengisolasi DNA total dari tumbuhan Tuntun Angin walaupun DNA yang diperoleh belum terlalu murni yang ditandai dengan masih terdapatnya lendir dan DNA sedikit mengental. Isolasi DNA sesuai Porebski *et al.* (1997) ini sebelumnya telah diterapkan pada berbagai tumbuhan kaya polisakarida dan polifenol. Tumbuhan tersebut yakni famili Rosaceae, spesies *Fragraria*, tumbuhan berry, dan tumbuhan lain yang berlendir dan memiliki kandungan resin yang tinggi.



**Gambar 1.** Profil pita DNA total Tuntun Angin. (M) *GeneRuler 1 kb DNA Ladder* (ThermoScientific (1) DNA total *E. floribundus*

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa DNA total yang diperoleh utuh yang ditunjukkan dengan pitayang jelas (Gambar 1). Kualitas DNA total Tuntun Angin yang diperoleh cukup baik. Pita DNA yang diperoleh utuh dan tebal. Pendaran pita menunjukkan jumlah DNA, semakin tebal pita maka semakin banyak jumlah DNA genom dan dapat digunakan untuk proses analisis selanjutnya. DNA merupakan materi genetik yang terdapat pada makhluk hidup. Daerah ini memuat berbagai informasi

penting, penggunaan DNA semakin sering diterapkan untuk menganalisis dan menyelesaikan berbagai permasalahan(Williams 2007).

### KESIMPULAN DAN SARAN

Teknik isolasi DNA Porebski *et al*, (1997) merupakan teknik isolasi yang paling tepat digunakan pada tumbuhan *E. floribundus*. DNA total Tuntun Angin yang diperoleh berkualitas baik yang ditandai dengan pita yang tebal dan utuh. DNA total yang diperoleh pada penelitian ini dapat dipergunakan untuk analisis sekuen *E. floribundus* pada penelitian selanjutnya.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan Terima kasih kepada Universitas Riau atas pendanaan penelitian melalui hibah penelitian Unggulan Universitas Riau Tahun anggaran 2016 atas nama Dr. Dewi Indriyani Roslim, M.Si.

### DAFTAR PUSTAKA

- Andersen HE. 2003 . *Hydrology, nutrient processes and vegetation in floodplainwetlands*. Denmark: National Environmental Research Institute.
- Arif IA, Bakir MA, Khan HA, Ahamed A, Al Farhan AH, Al Homaidan AA, Al Sadoon M, Bahkali AH, Shobrak M. 2010. A simple method for DNA extraction from mature date palm leaves. Impact of sand grinding and composition of lysis buffer. *Int J Mol Sci* 11: 3149-3157. doi:10.3390/ijms11093149.
- Asem ID, Majumder PB, Imotomba RK, Laishram JM. 2015. Genomic DNA extraction from the black scented rice (*Chakhao*). *Indian J of Plant Sciences* 4(1):34-37.
- Brahma S,Narzary H, Basumatary S.2013. Wild edible fruits of kokrajhar district of assam, north-east india. *Asian J of Plant Sci and Research* 3(6):95-100.
- Elvyra R, Yus Y. 2010. *Ikan lais dan sungai paparan banjir di provinsi riau*. UR Press. Pekanbaru.
- Farnoosh Gh R, Hassanpour K, Taheri RA, Ghamgosha M,Sani MRM, Mellat M. 2013. Comparison of three different DNA extraction methods from positive smears prepared from lesions of patients with cutaneous leishmaniasis. *EJEBAU* 3(6): 212-214.
- Geetha DH, Jayashree I, Rajeswari M. 2015. GC-MS analysis of ethanolic extract of *E. Serratus* L. *EJPMR* 2(2): 296-302.
- Hardainyan S, Nandy BC, Saxena R. 2015. Phytochemical investigation of fruit extract of *Elaeocarpus ganitrus*. *Int J of Pharmacy and PharmaceuticalScienc* 7(6).
- Joshi SC,Jain PK. 2014. A Review on ethnomedicinal and traditional uses of elaeocarpus ganitrus roxb (rudraksha). *Int J Pharm Bio Sci* 5(1):495-511.
- Khomdram S, Barthakur S, Devi GS. 2014. Biochemical and molecular analysis of wild endemic fruits of the manipur region of india. *International Journal of Fruit Science* 14:1-14. doi: 10.1080/15538362.2013.818483.
- Maliyakal EJ. 1992. An efficient method for isolation of RNA and DNA from plants containing polyphenolics. *Nucleic Acids Res* 20 (9):2381.
- Manral U, Raha A, Solanki R, Hussain SA, Mohan D, Talukdar G, Veeraswami GG. 2012. Hydrological characteristics and flood plain vegetation of human impacted wetlands a case study from okhla bird sanctuary national capital region india. *Asian Journal of Conservation Biology* 1(2): 110-119.
- Nugraha F, Dewi I.R , Ardila YP, Herman. 2014. Analisis sebagian sekuen gen *ferritin2* pada padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir Riau. *Biosantifika* 6 (2): 94-103.
- Pal R. 2015. Channel avulsion archives and morphological readjustment near the bhagirathi-mayurakshi confluence in the lower gangatic plain west Bengal India. *J of Environment and Earth Science* 5(3): 2224-3216.
- Person GA,Weerd MV. 2006. Biodiversity and natural resource management in insular Southeast Asia. *Island Studies Journal*1(1): 81-108.
- Porebski SL. Bailey G, Baum BR.1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol Bio* 15(1): 8-15.

- Rahman SS, Vacik H. 2015. Identify appropriate conservation strategies for rural people in Bangladesh. *Biodivers manage forestry* 4(1).doi:10.4172/2327-4417.1000137.
- Roslim DI, Nisa F, Herman. 2016. An analysis of partial DNA sequence of *Meis1* gene on sweet and bitter cassavas (*Manihot esculenta* Crantz.). *Biosaintifika* 8(1):103-110.
- Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley. Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *PNAS* 81: 8014-8018.
- Sahu SK, Thangaraj M, Kathiresan K. 2012. DNA extraction protocol for plants with high levels of secondary metabolites and polysaccharides without using liquid nitrogen and phenol. *ISRN Molecular Biology* 2012. doi:10.5402/2012/205049.
- Surzycky S. 2003. *Human Molecular Biology Laboratory*. Blackwell Science. UK
- Toha AHA. 2001. *Deoxyribo Nucleic Acid*. Keanekaragaman, ekspresi, rekayasa, dan efek pemanfaatannya. Alfabeta. Bandung.
- USDA (United States Department of Agriculture). 1996. Riparian areas environmental uniqueness, functions, and values. natural resources conservation services. <http://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/national/technical/?cid=nrcs143014199>. [15 Mar 2016].
- Vegetation resources. 2001. Fact riparian vegetation. Upper Parramatta river catchment trust. australia. [http://www.uprct.nsw.gov.au/vegetation/facts/riparian vegetation .htm](http://www.uprct.nsw.gov.au/vegetation/facts/riparian%20vegetation.htm). [15 Mar 2016].
- Williams A. 2007. Astonishing DNA complexity demolishes neo-darwinism. *J of Creation* 21(3): 111-117.
- Zein MSA, Prawiradilaga DM. 2013. *DNA barcode fauna indonesia*. Prenada Media. Jakarta