

## Optimasi Isolasi DNA Tumbuhan Durik-durik dari Danau Papanan Banjir Kajuik di Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau

PUTRI NURKHAIRANI\*<sup>1</sup>, DEWI INDRIYANI ROSLIM<sup>2</sup>, HERMAN<sup>3</sup>

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau,  
Kampus Bina Widya, Jl. HR Soebrantas, Panam, Pekanbaru 28293, Riau, Indonesia

\*e-mail: putri.nurkhairani2@gmail.com

### ABSTRAK

Durik-durik (*Syzygium sp*) merupakan salah satu vegetasi yang ada di ekosistem paparan banjir dari Danau Kajuik di Kecamatan Langgam, Kabupaten Pelalawan, Provinsi Riau. Setiap jenis tanaman memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, sehingga membutuhkan teknik isolasi DNA yang berbeda juga. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan metode isolasi DNA yang optimal pada tumbuhan Durik-durik, yang memiliki senyawa polisakarida dan polifenol yang tinggi. Metode penelitian meliputi pengambilan sampel, isolasi DNA total tumbuhan Durik-durik dengan tiga cara yaitu, Sanghai- Maroof *et al.* (1984), Porebski *et al.* (1997), isolasi DNA menggunakan DNEasy Plant Mini Kits, dan elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi DNA total menggunakan DNEasy Plant Mini Kits adalah cara yang tepat untuk isolasi DNA tumbuhan Durik-durik. Metode ini mampu menghasilkan fragmen DNA dengan kualitas yang lebih baik setelah dielektroforesis dan dilihat dibawah *UV transiluminator*.

Kata kunci : Isolasi DNA, paparan banjir ,polifenol, Riau, *Syzygium*

### ABSTRACT

Durik-durik (*Syzygium sp*) is one of the plants in the floodplain ecosystem in the Kajuik Lake, District of Langgam, Pelalawan, Riau Province. Every plant has different secondary compounds that need different method to isolate its DNA. The purpose of this research was to optimize the DNA isolation method in Durik-durik which has high polysaccharide and polyphenol. The research methods included sampling, total DNA isolation of Durik-durik and electrophoresis. The total DNA isolation was conducted following Sanghai-Marooof *et al.*, Porebski *et al.*, and Qiagen DNEasy Plant Mini Kit. This study showed that total DNA isolation using DNEasy Plant Mini Kit methods was appropriate to isolate the DNA of Durik-durik. The total DNA obtained was intact and enough to become a template in PCR.

Key words : Floodplain, polyphenol, Riau, *Syzygium*, the Isolation of DNA

### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki ekosistem paparan banjir (*Flood plain*) yang tersebar di beberapa wilayah di Indonesia. Salah satunya adalah Provinsi Riau, yaitu di Sungai Kampar. Paparan banjir terbentuk akibat adanya limpahan air dari sungai utama atau anak sungai yang akan membentuk genangan. Setelah genangan tersebut mengalami serangkaian proses geologis yang lebih lanjut akan membentuk sebuah danau banjiran yang berhubungan langsung dengan sungai utama atau anak sungai secara terus menerus atau temporal (Elvyra & Yus 2010).

Menurut Elvyra dan Yus (2010) vegetasi yang terdapat di sekitar ekosistem danau paparan banjiran di Sungai Kampar Provinsi Riau salah satunya adalah Durik-durik (*Eugenia sp*). Tumbuhan ini merupakan salah satu vegetasi yang tumbuh di daerah ekosistem danau paparan banjir, yaitu daerah-

daerah yang tergenang air baik secara terus menerus atau secara temporal yang dipengaruhi oleh curah hujan. Pada umumnya tumbuhan ini terletak di belakang hutan payau dengan jenis tanah aluvial. Daun-daun dari tumbuh-tumbuhan Durik-durik yang berguguran masuk ke dalam badan perairan dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi ikan yang bersifat herbivor ataupun sebagai tempat berlindung bagi ikan yang hidup di ekosistem paparan banjir tersebut. Selain itu buah dari tumbuhan ini menjadi makanan bagi burung-burung atau hewan yang hidup di ekosistem tersebut dan kayu dari tanaman tersebut dijadikan bahan kayu bakar oleh masyarakat sekitar daerah tersebut.

Pentingnya peran dari tumbuhan Durik-durik bagi kehidupan ekosistem di danau paparan banjir dan keunikan berupa kemampuannya untuk tumbuh dan berkembang dalam kondisi tergenang menjadikan tumbuhan Durik-durik sangat penting untuk dikaji khususnya bidang molekuler. Tumbuhan Durik-durik merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk ke dalam family Myrtaceae, secara umum memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, resin, tannin, dan minyak atsiri polifenol. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang tinggi terdapat di daun family Myrtaceae (Sudirman 2014). Senyawa polifenol merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat mengikat DNA sehingga mengganggu proses isolasi DNA. Keberadaan senyawa polifenol ini ditandai dengan terjadinya pencokelatan pada larutan DNA (Sahu *et al.* 2012). Oleh karena itu diperlukan metode yang tepat untuk isolasi DNA tumbuhan Durik-durik.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan sejak bulan Oktober 2015 sampai dengan Februari 2016. Pengambilan sampel dilakukan di daerah paparan banjir Riau tepatnya Danau Kajuik. Pengerjaan penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun dari tumbuhan Durik-durik yang diambil dari Danau Kajuik, Langgam, Provinsi Riau.

**Pengambilan Sampel.** Sampel daun diambil dari tumbuhan Durik-durik dan daun yang diambil untuk isolasi DNA adalah daun yang muda agar dapat diperoleh DNA dalam jumlah banyak.

**Isolasi DNA Total Durik-durik.** Optimasi isolasi DNA total menggunakan 3 cara, yaitu mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Saghai-Marooif *et al.* (1984), porebski *et al.* (1997), dan Qiagen (2012) menggunakan DNAeasy plant Mini Kit. Tahapan isolasi DNA yang dikembangkan oleh Saghai-Marooif *et al.* (1984) meliputi Daun Durik-durik ditimbang sebanyak 1,5 gram kemudian dipotong halus menggunakan gunting steril, dimasukkan ke dalam mortar ditambahkan nitrogen cair secukupnya, lalu digerus sampai halus. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung *ependrof* berukuran 50 ml yang baru dan steril, kemudian ditambahkan 1 volume buffer CTAB, lalu tabung diinkubasi pada suhu 65°C di *waterbath* selama 90 menit, setiap 10 menit tabung dibolak-balik secara perlahan, kemudian sampel didinginkan pada suhu ruang. Setelah dingin ditambahkan 1 volume kloroform, lalu dibolak-balik sampai homogen selama  $\pm$  10 menit. Sentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus akan ada dua fase, yaitu fase cair (supernatan) dan fase padat (pelet). Fase cair diambil dan dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml yang baru dan steril. Selanjutnya ditambahkan 1 volume isopropanol, lalu dibolak-balik sampai terbentuk benang-benang DNA yang berwarna putih. Disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, kemudian fase cair dibuang dan fase padat yang mengandung DNA didasar tabung dikeringkan pada suhu 37°C atau pada suhu ruang. Setelah kering ditambahkan 500  $\mu$ l buffer TE pH 8,0 kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama semalam.

Setelah itu dilakukan penambahan 200  $\mu$ l buffer TE pH 8,0 kembali untuk memperbesar volume DNA lalu ditambahkan 700  $\mu$ l fenol. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara dibolak-balik secara perlahan selama 10 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Larutan DNA pada fase cair bagian atas dipindahkan ke dalam tabung 1,5 ml yang baru dan steril. Kemudian ditambahkan 1 volume isopropanol lalu tabung kembali dibolak-balik hingga terbentuk benang-benang DNA yang berwarna putih. Tabung disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya DNA yang terdapat didasar tabung pada fase padat dikeringkan pada suhu 37°C atau pada suhu ruang, kemudian endapan DNA dibilas dengan 500  $\mu$ l etanol 70%, lalu dibolak-balik kemudian dikeringkan. Setelah kering ditambahkan 100  $\mu$ l buffer TE pH 8,0 untuk melarutkan DNA kembali. Larutan DNA total disimpan pada suhu -20°C, sedangkan larutan DNA kerja dengan konsentrasi 100 ng/ $\mu$ l disimpan pada suhu 4°C.

Tahapan isolasi menggunakan metode Porebski *et al.* (1997) terdiri dari daun Durik-durik ditimbang sebanyak 1 gram. Selanjutnya daun dipotong halus menggunakan gunting steril, diletakan potongan daun ke dalam mortar kemudian ditambahkan nitrogen cair secukupnya lalu digerus sampai halus. Hasil gerusan dimasukkan ke tabung *ependrof* steril ukuran 50 ml. Ditambahkan 1 volume buffer CTAB dan ditambahkan PVP sebanyak 0,1 gram. Tabung diinkubasi pada suhu 65°C di *waterbath* selama 90 menit, setiap 10 menit tabung dibolak-balik secara perlahan, kemudian sampel didinginkan pada suhu ruang. 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 ke dalam tabung baru steril berukuran 1,5 ml. selanjutnya ditambahkan 1 volume CIAA (Klorofom : Isoamil- Alkohol) = 24 : 1, dihomogenkan dengan bolak-balik tabung selama 10 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung *ependrof* baru steril berukuran 1,5 ml. Langkah ini kembali diulangi (Ekstraksi dengan Klorofom : Isoamil- Alkohol dilakukan sebanyak 2 kali).

Setelah itu ditambahkan 1 volume isopropanol, lalu dibolak-balik sampai terbentuk benang-benang DNA yang berwarna putih. Disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, kemudian fase cair dibuang dan fase padat yang mengandung DNA didasar tabung dikeringkan pada suhu 37°C atau pada suhu ruang. Setelah kering ditambahkan 500 µl buffer TE pH 8,0 kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama semalam. Kemudian dilakukan penambahan 200 µl buffer TE pH 8,0 kembali untuk memperbesar volume DNA lalu ditambahkan 700 µl fenol. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara dibolak-balik secara perlahan selama 10 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Larutan DNA pada fase cair bagian atas dipindahkan ke dalam tabung 1,5 ml yang baru dan steril. Setelah itu ditambahkan 1 volume isopropanol lalu tabung kembali dibolak-balik hingga terbentuk benang-benang DNA yang berwarna putih. Tabung disentrifus kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya DNA yang terdapat didasar tabung pada fase padat dikeringkan pada suhu 37°C atau pada suhu ruang, kemudian endapan DNA dibilas dengan 500 µl etanol 70%, lalu dibolak-balik kemudian dikeringkan. Setelah kering ditambahkan 100 µl buffer TE pH 8,0 untuk melarutkan DNA kembali. Larutan DNA total disimpan pada suhu -20°C, sedangkan larutan DNA kerja dengan konsentrasi 100 ng/µl disimpan pada suhu 4°C.

Tahapan metode Qiagen (2012) menggunakan DNAeasy plant Mini Kit adalah daun Durik-durik dipotong-potong menggunakan gunting yang bersih dan steril dengan berat segar 0,1 gram tanpa tulang daun, lalu dimasukkan ke dalam mortar, ditambahkan nitrogen cair secukupnya, kemudian digerus halus sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun tersebut dimasukkan ke dalam tabung baru yang steril berukuran 1,5 ml dan ditambahkan sebanyak 400 µl buffer AP1, lalu divorteks selama 10 detik, kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit, sambil tabung dibolak balik secara perlahan sekali-kali. Setelah itu ditambahkan 130 µl buffer P3 dan larutan dicampur dengan cara *pipeting* agar larutan homogen, lalu tabung diinkubasi di dalam es selama 5 menit. Tahapan selanjutnya tabung disentrifus pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus akan diperoleh dua fase, yaitu fase cair (supernatan) dan fase padat (pellet).

Supernatan dipindahkan ke dalam *QIAshredder mini spin column*, kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, lalu supernatan dipindahkan ke tabung 1,5 ml baru steril, lalu ditambahkan 1,5 volume buffer AW1 dan *pipeting* menggunakan pipet mikro. Setelah itu 650 µl supernatan dipindahkan ke tabung *DNeasy mini spin column*, kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit. Supernatan di dalam *collection tube* dibuang dan langkah tersebut diulangi untuk sisa larutan hasil isolasi daun Durik-durik. Setelah itu *DNeasy mini spin column* dipindahkan ke *collection tube* 2 ml baru steril, kemudian ditambahkan 500 µl buffer AW2. Larutan disentrifus pada kecepatan 4000 rpm selama 3 menit, lalu *DNeasy mini spin column* dipindahkan ke tabung 1,5 ml baru steril, lalu ditambahkan 100 µl buffer AE dan inkubasi pada suhu ruangan selama 6 menit, kemudian disentrifus pada kecepatan 4000 rpm selama 5 menit. Ulangi langkah pemberian 100 µl buffer AE untuk elusi 2. Larutan DNA disimpan pada suhu -20°C sedangkan larutan DNA kerja disimpan di suhu 4°C.

**Elektroforesis.** Elektroforesis merupakan tahapan selanjutnya untuk melihat kuantitas dan kualitas dari DNA total. Elektroforesis menggunakan 1,2 % gel agarose dalam 1 x buffer TBE (Tris-Borate-EDTA pH 8.0) dan 3 µl etidium bromida sebagai pewarna pita DNA. Panjang ukuran gel agarose yang digunakan untuk pemeriksaan fragmen DNA total panjang gel agarose yang digunakan sepanjang 3 cm. Sampel DNA yang akan diperiksa dimasukkan kedalam masing-masing sumur dengan komposisi 2 µl *loading dye* + 3 µl DNA sampel dan di salah satu sumur di antara sumur DNA sampel dimasukkan 1 µl *loading dye* + 1 µl *Ladder* sebagai marker atau acuan untuk melihat ukuran berat molekul DNA yang

diperiksa. Marker yang digunakan adalah marker yang memiliki berat molekul standar 1 kb *ladder*. Perkiraan ukuran 1 kb dan kuantitas fragmen DNA *ladder* yang bisa melewati gel agarose terdiri dari 14 kromatografi DNA (dalam ukuran pasang basa) yaitu; 10000, 8000, 6000, 4000, 3500, **3000**, 2500, 2000, 1500, **1000**, 750, 500, 250 (*Thermo Scientific* 2012).

Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 75 volt selama  $\pm 10$  menit untuk pemeriksaan DNA total dan selama  $\pm 30$  menit untuk pemeriksaan DNA hasil PCR. Visualisasi pita DNA di atas lampu UV lalu difoto menggunakan kamera.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Molekul DNA total dari tumbuhan Durik-durik dalam penelitian ini diperoleh melalui proses isolasi DNA tumbuhan tersebut. Proses isolasi DNA total merupakan tahapan yang sangat penting dalam melakukan analisis keragaman genetik secara molekuler. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi DNA total menggunakan metode, diantaranya metode Sanghai- Maroof *et al.* (1984), Porebski *et al.* (1997) dan DNEasy Plant Mini Kits sesuai dengan instruksi (Qiagen 2012).

**Metode Sanghai-Marooof *et al.* (1984).** Metode ini menggunakan buffer ekstraksi *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). Pemeriksaan elektroforesis dan visualisasi menggunakan sinar UV menunjukkan hasil yang negatif, yaitu tidak ada DNA total yang berhasil diisolasi. Saat proses isolasi DNA, larutan berwarna cokelat dan tidak tampak benang-benang DNA ketika pemberian larutan isopropanol. Warna cokelat menunjukkan tingginya kandungan metabolit sekunder seperti senyawa fenol dan alkaloid dan senyawa tersebut menghambat proses isolasi DNA. Sebelumnya metode ini telah diaplikasikan pada beberapa tanaman yang menunjukkan hasil positif, ditandai dengan adanya pita DNA total yang tebal dan tegas pada gel agarose. Metode CTAB Sanghai-Marooof *et al.* (1984) berhasil digunakan untuk mengisolasi DNA total dari banyak tanaman, diantaranya tanaman padi (*Oryza sativa*) (Nugraha *et al.* 2014), dan tanaman ubi kayu (*Manihot esculents* Crantz) (Roslim *et al.* 2015).

**Metode Porebski *et al.* (1997).** Metode ini menggunakan CTAB dan *Polyvinyl pyrrolidone* (PVP). Larutan CTAB adalah larutan dengan komponen dan konsentrasi garam tinggi yang mampu menghilangkan polisakarida. Polisakarida merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan. Menurut Fang *et al.* (1990) Senyawa polisakarida dapat mengganggu proses selama elektroforesis yang dapat menyebabkan terjadinya kesalahan penafsiran pada fragmen DNA. Penambahan konsentrasi garam yang tinggi yaitu lebih dari 1M NaCl, dapat meningkatkan kelarutan dan eliminasi senyawa polisakarida.

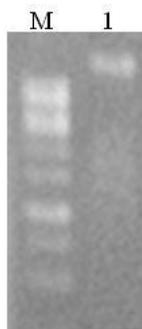
PVP yang digunakan dalam metode ini berfungsi untuk menghilangkan senyawa polifenol yang terdapat di pada tumbuhan. Senyawa polifenol dapat mengikat DNA sehingga mengganggu proses isolasi DNA. Keberadaan senyawa polifenol ini ditandai dengan terjadinya pencokelatan pada larutan DNA. PVP akan membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa polifenol dan memisahkannya dari DNA saat proses sentrifus sehingga DNA tumbuhan dapat memisah dari senyawa polifenol (Sahu *et al.* 2012).

Menurut Sudirman (2014) *Syzygium polyantha* yang merupakan salah satu tumbuhan dari famili Myrtaceae secara umum memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, resin, tannin, dan minyak atsiri polifenol. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang banyak terdapat di daun dan berperan dalam proses fotosintesis. Tanin merupakan senyawa fenol dalam jumlah yang banyak dapat berperan sebagai antimikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Widyaningrum (2008) pada tumbuhan *Syzygium uniflora* menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut banyak mengandung sitronela, sineol, terpenin, sesquiterpen, vitamin C, saponin, flavonoid, tannin dan antosianin, dengan jumlah flavonoid dan tanin yang tinggi pada organ daun.

Hasil isolasi menggunakan metode Porebski *et al.* (1997) pada penelitian ini juga menunjukkan hasil yang negatif yaitu tidak terdapat fragmen DNA pada gel agarose saat pemeriksaan di atas lampu UV. Hal ini diduga karena banyaknya kandungan polifenol yang terdapat pada daun durik-durik. Pada penelitian, sulit memperoleh daun muda atau pucuk, sehingga isolasi DNA dilakukan pada daun dewasa atau tua. Daun yang sudah tua mengandung polisakarida dan polifenol yang tinggi. Penelitian sebelumnya menggunakan metode ini sudah dilakukan dan menunjukkan hasil yang positif, seperti pada penelitian Famili Rosaceae, pada tumbuhan *Vitis vinifera* (Lodhi 1994).

**Isolasi DNA menggunakan DNEasy Plant Mini Kits** dengan prosedur pengerjaan isolasi DNA mengikuti instruksi dari pabrik (Qiagen 2012). Untuk melihat kualitas dan kuantitas dari hasil isolasi tersebut dilakukan elektroforesis DNA total menggunakan mesin elektroforesis dan pengecekan dengan melihat pita DNA tumbuhan durik-durik pada gel agarose menggunakan sinar UV. Elektroforesis merupakan teknik untuk memigrasikan partikel bermuatan pada matrik berpori dibawah pengaruh medan listrik (Green & Sambrook 2012). Molekul DNA yang memiliki muatan negatif akan mengalir ke arah kutub positif dalam medan listrik. Ukuran molekul mempegaruhi cepatnya laju migrasi, semakin berat molekul DNA semakin lama laju migrasinya (Fairbanks & Andersan 1999).

Isolasi DNA total tumbuhan Durik-durik menggunakan DNEasy Plant Mini Kits menunjukkan hasil positif. Fragmen DNA total yang diperoleh cukup baik, ditandai dengan terlihatnya DNA yang tegas dan utuh (Gambar 1). Ketebalan pita DNA menunjukkan konsentrasi DNA total yang diperoleh. Semakin tebal fragmen DNA menunjukkan semakin tinggi konsentrasi DNA total yang diperoleh.



Gambar 1 Profil fragmen DNA total tumbuhan Durik-durik menggunakan 1,2% gel agarose. Keterangan : (1) DNA total dan (M) 1kb DNA ladder

## KESIMPULAN

Metode isoalsi DNA total yang tepat untuk tumbuhan Durik-durik adalah menggunakan DNEasy Plant Mini Kit (Qiagen 2012).Fragmen DNA total yang diperoleh cukup baik, ditandai dengan terlihatnya DNA yang tegas dan utuh. Ketebalan pita DNA menunjukkan konsentrasi DNA total yang diperoleh, semakin tebal fragmen DNA menunjukkan semakin tinggi konsentrasi DNA total yang diperoleh.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Penelitian UR tahun anggaran 2016 atas nama penulis kedua.

## DAFTAR PUSTAKA

- Elyyra R, Yus Y. 2010. *Ikan Lais dan sungai paparan banjir di Provinsi Riau*. Pekanbaru: UR press.
- Fairbanks DJ, Andersen WR. 1999. *Genetic: The continuity of life*. New York: Brooksdole Publishing Company.
- Fang GS, Hummer, Grumet R.1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Green MR, Sambrook J. 2012. *Molecular cloning : A laboratory manual*. 4th ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Lodhi MA, Ye GN, Norman F, Weeden, Reisch BI. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. *Plant Molecular Biology*. 12: 6-13.
- Porenbski S, Builey, Baunt BR. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plant containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*. 15: 8-15.
- Roslim DI, Nugraha F, Ardila YP, Herman. 2014. Analisis sebaqaian sekuen gen *ferritin2* pada padi (*Oriza sativa* L) indragiri hilir, Riau. *Biosaintifika*. DOI:10.15294/biosaintifika.v6i2.3102.

- Roslim DI, Shinta O, Herman. 2015. Analisis sebagian sekuen DNA dari gen *meisa1* pada ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe menggalo dan roti. *Jurnal Dinamika Pertanian*. 30:109-116.
- Saghai-Marooif M A, 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 SA, 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*. doi:10.5402/2012/205049.
- Sudirman TA. 2014. Uji efektivita ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin.
- Thermo Scientific. 2012. Product information thermo scientific gene ruler 1 kb DNA ladder, ready-to-use. [www.thermoscientific.com/onebio](http://www.thermoscientific.com/onebio). [18 Maret 2016].
- Widyaningrum NR. 2008. Potensi aktivitas ekstrak etanol daun dewaar ( *Eugenia uniflora* L.) sebagai agen pengkelat logam Fe dan penangkap malonaldehid [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Surakarta.