

OPTIMALISASI METODE EKSTRAKSI DAN PURIFIKASI DNA MIKROBIA DARI TANAH BUDIDAYA SORGUM MANIS (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Atikah Rukmana Dewi
12/334091/BI/08972

INTISARI

Studi metagenomik mikrobial tanah digunakan secara luas seiring dengan kebutuhan akan pengetahuan mengenai diversitas, jalur metabolik, potensi katalitik serta identifikasi gen yang mengkode berbagai substansi penting dari mikroorganisme. Hal yang diperlukan untuk studi metagenomik adalah metode ekstraksi dan purifikasi DNA mikrobial yang efektif dan efisien. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari optimasi metode ekstraksi dan purifikasi DNA mikrobial dari tanah yang ditanami sorgum manis untuk mendapatkan DNA dengan kuantitas dan kualitas yang baik, serta dapat dilakukan amplifikasi gen 16S rRNA. DNA genom mikrobial diekstrak dengan kultur independen secara langsung menggunakan 3 metode, yaitu ekstraksi DNA dengan kit isolasi FavorprepTM dan ekstraksi manual yang mengacu pada Zhao *et al.*, (1996) dengan modifikasi. DNA yang berhasil diekstrak, dipurifikasi menggunakan beberapa metode purifikasi, yaitu pengenceran, presipitasi DNA dengan etanol, presipitasi DNA dengan phenol-kloroform, purifikasi dengan kit GenetBio dan ekstraksi DNA dari gel elektroforesis dengan penambahan PVP. Pada penelitian ini, DNA mikrobial tanah hanya berhasil diekstraksi dengan metode manual. DNA yang diperoleh memiliki ukuran DNA dan konsentrasi yang baik, namun masih mengandung kontaminan. Semua metode purifikasi DNA yang dilakukan dapat meningkatkan kemurnian DNA, namun hanya DNA yang dipurifikasi dari ekstraksi gel elektroforesis yang dapat dilakukan amplifikasi gen 16S rRNA. Metode ekstraksi DNA mikrobial secara manual dilanjutkan dengan purifikasi dengan ekstraksi DNA dari gel elektroforesis dapat mengisolasi DNA dengan kuantitas dan kualitas yang baik dan dapat dilakukan amplifikasi gen 16S rRNA.

Kata kunci: DNA mikrobial tanah, ekstraksi DNA, metagenomik, *polymerase chain reaction*, purifikasi DNA.

OPTIMIZATION EXTRACTION AND PURIFICATION METHOD OF MICROBIAL DNA FROM SOIL GROWING SWEET SORGHUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Atikah Rukmana Dewi
12/334091/BI/08972

ABSTRACT

Study of soil microbial metagenomic is used widely to determine the diversity, metabolic pathways, potential catalytic and identification of genes that encode many important substances from microorganisms. The most critical part of study metagenomic is the using of extraction and purification method of microbial DNA effectively and efficiently. The aims of this research are to study the optimization of DNA extraction and purification methods from soil growing sweet sorghum to obtain DNA with good quantity and quality and to amplify the 16S rRNA gene. Soil microbial DNA was extracted by independent cultures directly by using Favorprep™ DNA isolation kit and the manual extraction method which refers to Zhao *et al.*, (1996) with modifications. DNA was purified using several purification methods, including dilution, ethanol precipitation, phenol-chloroform precipitation, purification with GenetBio purification kit and DNA extraction from gel electrophoresis with addition of PVP. In this study, soil microbial DNA could be extracted only with manual extraction methods. Extracted DNA has a good quantity, but it contains contaminant. All DNA purification methods could improve the purity of DNA, but only DNA from gel electrophoresis extraction could be amplified the 16S rRNA gene successfully. In conclusion, soil microbial DNA extraction methods manually followed by purification with DNA extraction from gel electrophoresis could isolate DNA with good quantity and quality and could be amplified the 16S rRNA gene.

Keywords: DNA extraction, DNA purification, metagenomic, polymerase chain reaction, soil microbial DNA.