

Uji Kemurnian DNA Melon (*Cucumis melo L.*) Kultivar “Gama Melon Basket” Menggunakan *Surface Plasmon Resonance (SPR)* Berbasis Nanopartikel Perak

Thoyibi*, Muhammad Arifin, Kamsul Abraha

Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada
Sekip Utara, BLS 21 Yogyakarta
thoy_161@yahoo.co.id

Received 30-05-2014, Revised 24-11-2014, Accepted 26-12-2014, Published 30-04-2015

ABSTRACT

DNA level of purity has been tested by observing the phenomenon of surface plasmon resonance (SPR) in silver film + silver (Ag) nanoparticles system as DNA sensor using Kretschmann configuration. Surface plasmon resonance (SPR) phenomenon observed in the resonance condition of reflectance spectrum vary with incident angle of laser, beamed toward prism. System is built as a model for DNA purity test instrument that give higher accuracy. DNA purity testing was conducted by placing DNA layer with various ratio on prism in order to get the angle shift value in each sample as a result. Purity level of DNA indicates the DNA quality based on the ratio between the amount of pure DNA compared to the amount of impurity materials (protein). After the deposition of DNA in ratio 1,774, 1,838 and 1,916 SPR angle shifted $0,40^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$, $0,20^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$ and $0,10^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$ respectively. Characteristic differences of DNA with different purity (ratio) are shown by reflectance value that is getting higher at a smaller ratio, indicates that in the higher DNA ratio the angle shift is getting smaller. SPR angle shift which is occurred before and after DNA deposition shows the sensitivity of SPR as DNA sensor.

Keywords: Surface plasmon resonance (SPR), DNA sensor, silver nanoparticle, Kretschmann configuration

ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian tingkat kemurnian DNA dengan mengamati fenomena surface plasmon resonance (SPR) pada sistem lapisan tipis perak + nanopartikel perak (Ag) sebagai sensor DNA dalam konfigurasi Kretschmann. Fenomena surface plasmon resonance (SPR) diamati pada kondisi resonansi spektrum reflektansi pada tiap variasi sudut datang laser terhadap prisma. Uji kemurnian DNA dilakukan dengan mendeposisikan lapisan DNA dengan variasi rasio pada masing masing prisma untuk kemudian diperoleh hasil pergeseran sudut yang terjadi pada masing masing sampel. Kemurnian DNA didefinisikan sebagai kualitas DNA yang disajikan dalam nilai rasio atau perbandingan jumlah DNA murni dibandingkan dengan jumlah pengotor (protein). Setelah dideposisikan DNA dengan rasio 1,774, 1,838 dan 1,916 sudut SPR bergeser masing-masing sebesar $0,40^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$, $0,20^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$ dan $0,10^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$. Perbedaan karakteristik DNA dengan kemurnian (rasio) berbeda ditunjukkan oleh nilai reflektansi yang semakin besar pada nilai rasio yang lebih kecil, sehingga semakin besar rasio DNA maka akan semakin kecil pergeserannya. Pergeseran sudut SPR sebelum dan sesudah deposisi DNA menunjukkan sensitifitas SPR sebagai sensor DNA.

Kata kunci: Surface plasmon resonance (SPR), sensor DNA, nanopartikel perak, konfigurasi Kretschmann

PENDAHULUAN

Melon kultivar Gama Melon Basket merupakan hasil budidaya dari persilangan antara tanaman melon varietas TC4 dan F2B5. Persilangan melon TC4 dan F2B5 digunakan sebagai parental untuk menghasilkan kultivar TCB5, yang selanjutnya dikembangkan menjadi kultivar Gama Melon Basket [1].

Studi tentang melon lebih banyak difokuskan pada gen-gen yang memiliki arti penting untuk meningkatkan kualitas melon. Gen yang mengatur sifat-sifat tanaman berada dalam segmen spesifik DNA. Untuk mempelajari gen suatu tanaman perlu dilakukan ekstraksi DNA terlebih dahulu [2].

Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan memanfaatkan detergen. Ekstraksi DNA dengan metode detergen dikembangkan untuk mengatasi masalah berupa keterbatasan kit ekstraksi DNA [3]. Selain untuk mengekstrak DNA dari dalam sel tanaman, ekstraksi DNA dilakukan memiliki tujuan untuk mendapatkan konsentrasi yang tinggi dan tingkat kemurnian DNA yang baik. Keberhasilan proses ekstraksi DNA dapat diketahui dari kuantitas dan tingkat kemurnian DNA yang diperoleh [4].

Pengukuran tingkat kemurnian DNA sangat penting dilakukan sebagai prosedur dalam banyak penelitian pada bidang biologi molekuler. Namun, penentuan tingkat kemurnian DNA akan menjadi sulit ketika kemurnian sampel tidak pasti. Oleh sebab itu diperlukan suatu instrumen yang mampu mengukur tingkat kemurnian DNA secara akurat. Biosensor berbasis *surface plasmon resonance* (SPR) merupakan jenis sensor optik yang memanfaatkan gelombang *surface plasmon polariton* (SPP). Pemanfaatan SPR yang digunakan sebagai biosensor menunjukkan hasil yang sangat menjanjikan terutama untuk mempelajari interaksi biomolekuler dalam bidang keilmuan biologi molekuler [5].

Teknologi biosensor berbasis SPR sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi teknologi untuk menunjang kegiatan analisis maupun deteksi pada bidang bioteknologi. Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan fenomena SPR untuk mendeteksi keberadaan senyawa biomolekul DNA. Ide pengembangan sistem deteksi dengan SPR didasarkan pada model SPR konvensional dengan menambahkan lapisan nanopartikel perak. Penelitian ini dilakukan sebagai langkah awal pengembangan teknologi sensor pada bidang biomolekuler yaitu untuk mengetahui nilai kemurnian DNA dari hasil ekstraksi. Tingkat kemurnian yang baik menunjukkan keberhasilan dari proses ekstraksi materi genetik berupa DNA.

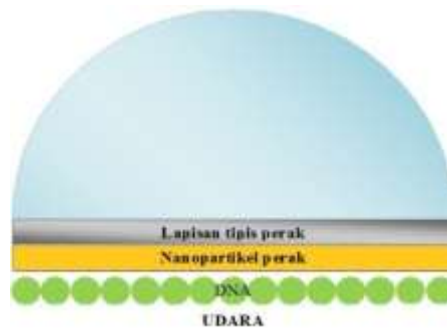
LANDASAN TEORI

Gelombang *surface plasmon* (SP) adalah gelombang elektromagnetik terpolarisasi-*p* atau *transverse magnetic* (TM) yang merambat sepanjang *interface* logam dan dielektrik. Gelombang SP menjalar paralel pada *interface* dan meluruh secara eksponensial dalam arah normal *interface* logam dan dielektrik. Konfigurasi untuk mengeksitasi gelombang SP dalam permukaan logam dengan metode prisma terkopling telah didemonstrasikan oleh Otto dan Kretschmann menggunakan prinsip *attenuated total reflection* (ATR). Gelombang SP dapat digambarkan sebagai osilasi muatan bersama rapat elektron pada *interface* logam dan dielektrik. Saat terjadi resonansi SP, pantulan cahaya akan menurun tajam pada lapisan logam yang dideposisikan pada permukaan prisma. Kondisi resonansi terjadi ketika komponen tangensial vektor gelombang datang (*evanescent wave*) sama dengan bagian real vektor gelombang *surface plasmon*. Fenomena inilah yang disebut *surface plasmon resonance* (SPR) [6]. Kurva SPR (reflektansi *versus* sudut datang) yang diperoleh dapat dikarakterisasi dalam tiga parameter utama : posisi *dip*, ketinggian puncak *dip* dan lebar *dip*. Posisi minimum

reflektansi (*dip*) sangat sensitif terhadap perubahan bagian real indeks refraksi medium batasnya, karenanya besaran ini selalu digunakan untuk tujuan sensor [7].

Reflektansi untuk sistem lima lapisan pada Gambar 1 dapat diperoleh melalui persamaan berikut [8] :

$$R = |r_{ijk}|^2 = \left| \frac{r_{ij} + r_{jk} e^{2ik_j d_j}}{1 + r_{ij} r_{jk} e^{2ik_j d_j}} \right|^2 \tag{1}$$



Gambar 1. Sistem lima lapisan dalam konfigurasi Kretschmann

Secara umum untuk dua medium yang berbeda ketebalan (*d*) dan lapisan dielektriknya (ϵ) maka nilai reflektansinya adalah :

$$r_{ij} = \frac{\epsilon_j k_{ix} - \epsilon_i k_{jx}}{\epsilon_j k_{ix} + \epsilon_i k_{jx}} \tag{2}$$

$$k_{ix} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_i - n^2 \sin^2 \theta_i} \tag{3}$$

dengan r_{ij} merupakan reflektansi sinar datang yang terjadi pada medium ke-*j* yang bersasal dari medium ke-*i*, k_{ix} adalah komponen vektor gelombang yang searah dengan permukaan bidang batas.

Sensitifitas SPR biosensor dapat dicari dengan menggunakan persamaan berikut :

$$S = \frac{\Delta y}{\Delta x} \tag{4}$$

dengan *y* merupakan respon dan *x* merupakan stimulus. Respon dari SPR biosensor adalah pergeseran sudut SPR ($\Delta\theta_{spr}$) untuk setiap perubahan indeks bias (*n*) atau konsentrasi (*m*).

METODE PENELITIAN

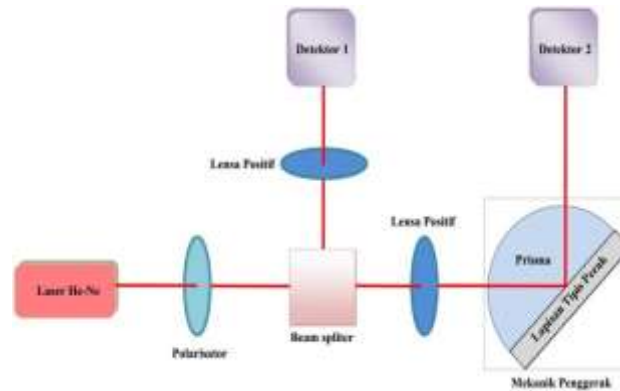
Material yang digunakan adalah lapisan tipis perak, nanopartikel perak serta DNA melon kultivar Gama Melon Basket dengan berbagai variasi rasio.

Sintesis nanopartikel perak dilakukan dengan metode reduksi kimia dengan perbandingan konsentrasi. Perak nitrat (AgNO₃) dipanaskan sampai dengan suhu mendekati 100° C kemudian dititrasi dengan trisodium sitrat (2Na.C₆H₅O₇.1H₂O) *drop by drop* sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Pengadukan dihentikan sampai larutan berubah warna menjadi kuning kecokelatan.

Deposisi lapisan tipis perak dideposisikan pada prisma dengan teknik evaporasi menggunakan *vacuum evaporator*. Proses evaporasi dilakukan pada tekanan ruang vakum 3×10^{-3} Pa dengan arus 50 A serta jarak prisma ke sumber 10 cm selama 15 detik.

Deposisi lapisan nanopartikel perak dan lapisan DNA dideposisikan pada sistem lapisan tipis perak dengan menggunakan teknik *spray* dengan jarak 25 cm.

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi laser HeNe (HRP005S) dengan panjang gelombang 632,8 nm, *precision linear polarizer* (10LP-VIS-B), *polarizing beam splitter* (PBS202), *laser power meter* (LP1), lensa positif, dan prisma. Skema pengamatan fenomena SPR ditunjukkan pada Gambar 2.

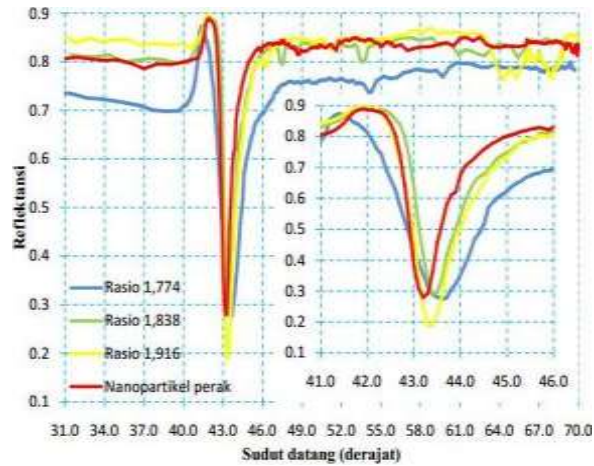


Gambar 2. Skema alat pengamatan fenomena SPR

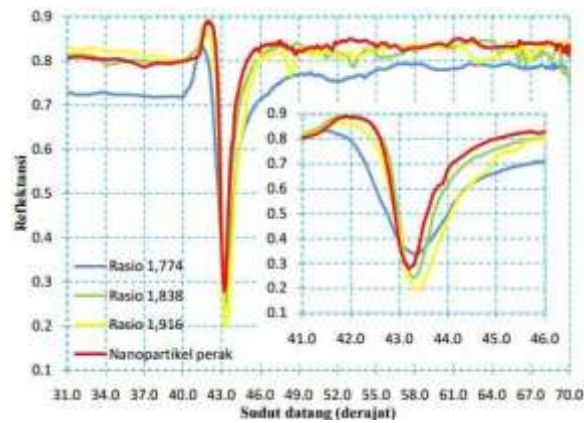
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan fenomena SPR yang dilakukan pada sistem prisma/Ag/nanopartikel perak/DNA dengan berbagai variasi rasio ditunjukkan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Berdasarkan hasil pengamatan pada DNA dalam kondisi masih basah maupun sudah kering, maka dapat dibandingkan hasil pergeseran sudut diantara dua keadaan tersebut. Dalam kondisi basah, dapat diketahui bahwa adanya kecenderungan pergeseran sudut SPR yang semakin kecil ketika rasio DNA semakin besar. Hal ini dikarenakan semakin besar nilai rasio maka tingkat kemurnian DNA semakin tinggi. Tingkat kemurnian DNA memiliki pengaruh terhadap nilai indeks bias DNA. Semakin tinggi tingkat kemurnian DNA, maka indeks biasnya akan bernilai semakin kecil, sehingga pengaruhnya terhadap pergeseran sudut SPR juga akan semakin kecil. Sedangkan dalam kondisi kering, pergeseran sudut SPR cenderung sama untuk semua variasi rasio. Hal ini dimungkinkan dalam kondisi kering, molekul DNA sudah rusak, sehingga keberadaan DNA dalam hal ini sebagai pengotor yang bersifat menambah ketebalan lapisan saja.

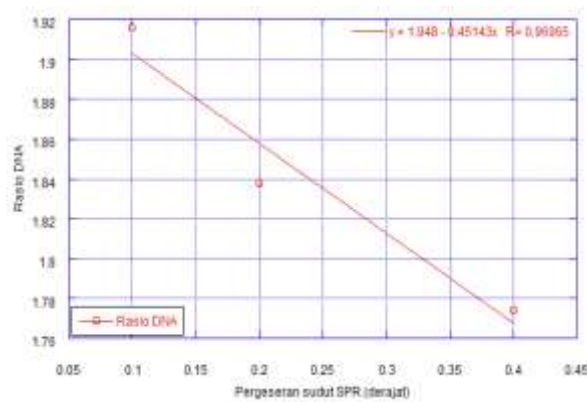


Gambar 3. Kurva SPR pada sistem prisma/Ag/nanopartikel perak/DNA (basah) dengan variasi rasio dalam konfigurasi Kretschmann



Gambar 4. Kurva SPR pada sistem prisma/Ag/nanopartikel perak/DNA (kering) dengan variasi rasio dalam konfigurasi Kretschmann

Hubungan antara rasio DNA dengan pergeseran sudut SPR dapat diperoleh grafik hubungan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.



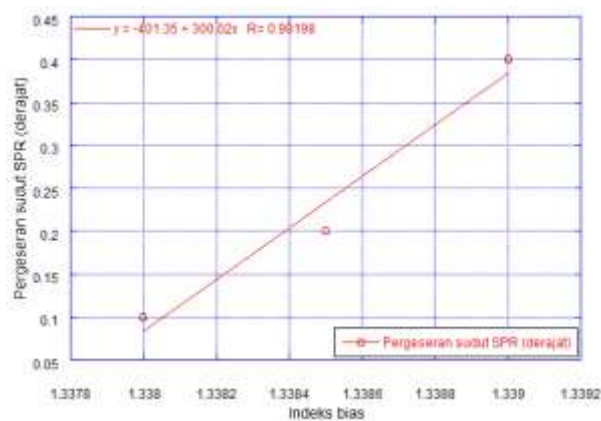
Gambar 5. Grafik rasio DNA vs pergeseran sudut SPR ($\Delta\theta_{spr}$)

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perubahan nilai rasio DNA terhadap perubahan sudut SPR yaitu gradien grafik sebesar $(-0,45 \pm 0,11)$, sehingga untuk setiap perubahan rasio sebesar 1, maka akan terjadi pergeseran sudut SPR sebesar $(0,45 \pm 0,11)^\circ$. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin besar nilai rasio DNA, maka akan berpengaruh

terhadap nilai reflektansi yang semakin kecil, sehingga mengakibatkan pergeseran sudut SPR yang terjadi sangat kecil.

Sensitifitas SPR terhadap perubahan indeks bias dapat dicari dengan menggunakan grafik hubungan antara indeks bias (n) dengan pergeseran sudut SPR ($\Delta\theta_{spr}$) yaitu dengan menghitung gradien grafik dengan berdasarkan pada Persamaan 4. Hubungan antara indeks bias dengan pergeseran sudut SPR ditunjukkan pada Gambar 6.

Berdasarkan grafik pada Gambar 6 tersebut diperoleh perubahan sudut SPR terhadap perubahan indeks bias yaitu gradien grafik sebesar $(300,02 \pm 57,74)^\circ$. Hal ini berarti untuk perubahan indeks bias sebesar 1 terjadi pergeseran sudut SPR sebesar $(300,02 \pm 57,74)^\circ$, sehingga untuk perubahan indeks bias sebesar 0,001 terjadi pergeseran sudut SPR sebesar $(0,30 \pm 0,06)^\circ$.



Gambar 6. Grafik pergeseran sudut SPR ($\Delta\theta_{spr}$) vs indeks bias

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pergeseran sudut yang lebih besar terjadi pada analit berupa DNA dalam kondisi basah apabila dibandingkan dengan keadaan kering. Hal tersebut berimplikasi pada nilai sensitifitas yang lebih besar terjadi pada DNA basah apabila dibandingkan dengan DNA kering yang ditunjukkan dengan pergeseran sudut SPR yang semakin kecil pada DNA kering. Alasan yang dapat dikemukakan berdasar fenomena yang terjadi adalah karena dalam keadaan kering molekul DNA telah rusak, sehingga pengukuran yang dilakukan pada lapisan DNA kering tidak lagi akurat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa metode *surface plasmon resonance* (SPR) berbasis nanopartikel perak sebagai biosensor DNA, dapat diaplikasikan pada sistem *sensing* dengan mendeposisikan nanopartikel dibawah lapisan analit sebagai probe DNA. Hasil pengamatan menunjukkan sensitifitas kurva SPR yang ditandai dengan adanya pergeseran sudut SPR yang terjadi setelah deposisi DNA pada sistem. Bentuk kurva SPR pada sistem lapisan tipis perak/nanopartikel perak dengan sistem lapisan tipis perak/nanopartikel perak/DNA menunjukkan perbedaan nilai reflektansi minimum yang terjadi. Perbedaan juga ditunjukkan oleh sudut SPR yang mengalami pergeseran yang terjadi setelah penambahan lapisan DNA yang menunjukkan sensitifitas instrumen *sensing* SPR sebagai sensor DNA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas kerjasama dan dukungan dari grup riset "Surface Plasmon Resonance dan Nanopartikel" Laboratorium Fisika Material dan Instrumentasi Jurusan Fisika FMIPA UGM serta Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia melalui hibah penelitian Strategi Nasional 2013.

DAFTAR PUSTAKA

1. N. Huda, Perakitan dan perbandingan karakter fenotip buah Melon (*Cucumis melo L.*) kultivar Gama Melon Basket dengan kultivar melon komersial, *Skripsi S1*, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2009.
2. K. Semagn, Å. Bjørnstad and M.N. Ndjondjop, An overview of molecular marker methods for plants, *African Journal of Biotechnology*, vol. 5, no. 25, 2006, pp. 2540-2568.
3. L.R. DeBoer, R.J. Sobieski and S.S. Crupper, Isolation and restriction endonuclease digestion of onion DNA in the junior college-high school biology laboratory, *Bioscene*, vol. 26, no. 3, 2000, pp. 15-17.
4. K.K. Vinod, Total genomic DNA extraction, quality check and quantitation, *Proceedings of the Training Programme on "Classical and modern Plant Breeding Techniques-A Hands on Training"*, Centre for Plant Breeding and Genetic, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India, 2004, pp. 109-121.
5. D.R Shankaran, K.V. Gobi and N. Miura, *Recent advancement in surface plasmon resonance immunosensors for detection of smallmolecules of biomedical, food and environmental interest*. Art,Science and Technology Center for Cooperative Research, Kyushu University, Kasuga-shi, Fukuoka, Japan, 2006.
6. H. Raether, Surface plasmons and smooth and rough surfaces and on grating, *Springer Tracts in modern physics*, vol. 111, 1988, chap. 2
7. N.J. Tao, S. Boussaad, W.L. Huang, R.A. Arechabaleta and J. D'Agnese, High resolution surface plasmon resonance spectroscopy, *Review of Scientific Instruments*, vol.70, 1999, pp. 4656-4660.
8. C.H. Liao, C.M. Lee, L.B. Chang, Effect of a metal film and prism dielectric on properties of surface plasmon resonance on a multilayer system, *Japanese Journal of Applied Physics*, vol 36, no. 12, 1999, pp. 1105-1111.