

**PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KUALITAS
DAN KUANTITAS DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera*
Lam.) MENGGUNAKAN METODE CTAB (*Cetyl*
Trimethyl Ammonium Bromide)**

SKRIPSI



**Oleh:
Firda Makkiatul Ikrima
NIM 19040049**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KUALITAS
DAN KUANTITAS DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera*
Lam.) MENGGUNAKAN METODE CTAB (*Cetyl*
Trimethyl Ammonium Bromide)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :
Firda Makkiatul Ikrima
NIM 19040049

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Jember, 28 Agustus 2023

Pembimbing Utama



apt. Sholihati Hidayati, M.Farm.
NIDN. 0509088601

Pembimbing Anggota



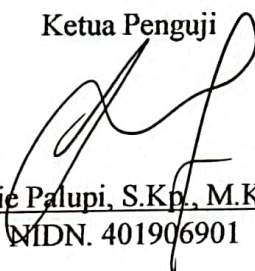
Aliyah Purwanti, M.Si.
NIDN. 0709129002

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Kualitas dan Kuantitas DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan Metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu
Tanggal : 30 Agustus 2023
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi

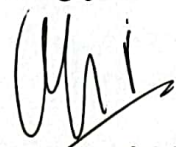
Ketua Penguji


Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes.
NIDN. 401906901

Penguji II


apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm.
NIDN. 0509088601

Penguji III


Aliyah Purwanti, M.Si.
NIDN. 0709129002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 0703068903

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Firda Makkiatul Ikrima
NIM : 19040049
Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa adanya paksaan dari pihak manapun. Apabila kemudian hari ditemukan adanya kecurangan dalam penyusunan skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, 30 Agustus 2023
Yang menyatakan,



(Firda Makkiatul Ikrima)

SKRIPSI

PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KUALITAS DAN KUANTITAS DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera* *Lam.*) MENGGUNAKAN METODE CTAB (*Cetyl* *Trimethyl Ammonium Bromide*)

Oleh:
Firda Makkiatul Ikrima
NIM 19040049

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm.
Dosen Pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si.

PERSEMBAHAN

Tiada lembar yang paling indah dalam laporan skripsi ini kecuali lembar persembahan. Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kepada Allah SWT. atas limpahan rahmat dan ridho-Nya yang senantiasa selalu memberikan kemudahan, petunjuk, kekuatan dan keyakinan sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini tepat pada waktunya. Sholawat serta salam selalu tercurah limpahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW.

Segala perjuangan saya hingga titik ini, Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Keluarga terutama kedua orang tua yang telah memberikan pengertian dan kasih sayang yang begitu besar, biaya, waktu, semangat, serta doa untuk mendidik dan membesarkan saya dengan ketulusan jiwa dan raga. Sehingga saya sampai pada titik ini dan menggapai gelar S. Farm.
2. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas dr.Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
3. Sahabat-sahabat saya pemilik NIM 19040013,19040014, 19040018, 19040019, 19040020, 19040026, 19040028, 19040040, 19040045 yang selalu menghibur, membantu, memberi dukungan, semangat dan motivasi sekaligus jadi tempat keluh kesah serta diskusi hal apapun selama masa kuliah.
4. Diri sendiri, terimakasih karena telah mampu berusaha keras dan mau bertahan sampai sejauh ini. Aku bangga untuk setiap langkah kecilku.

MOTTO

كُلُّنَا أَشْخَاصٌ عَادِيٌّ فِي نَظَرِ مَنْ لَا يَعْرِفُنَا

Kita semua adalah orang biasa dalam pandangan orang-orang yang tidak mengenal kita.

وَكُلُّنَا أَشْخَاصٌ رَائِعُونَ فِي نَظَرِ مَنْ يَفْهَمُنَا

Kita adalah orang yang menarik di mata orang yang memahami kita.

وَكُلُّنَا أَشْخَاصٌ مُمَيِّزُونَ فِي نَظَرِ مَنْ يُحِبُّنَا

Kita istimewa dalam penglihatan orang-orang yang mencintai kita.

وَكُلُّنَا أَشْخَاصٌ مَعْرُورُونَ فِي نَظَرِ مَنْ يَحْسُدُنَا

Kita adalah pribadi yang menjengkelkan bagi orang yang penuh kedengkian kepada kita.

وَكُلُّنَا أَشْخَاصٌ سَيِّئُونَ فِي نَظَرِ مَنْ يَحْقِدُ عَلَيْنَا

Kita adalah orang-orang jahat di dalam tatapan orang-orang yang iri dengan kita.

لِكُلِّ شَخْصٍ نَظَرَتُهُ، فَلَا تَتَعَبُ نَفْسُكَ لِتُحْسِنَ عِنْدَ الْآخَرِينَ

Pada akhirnya, setiap orang memiliki pandangannya masing masing, maka tidak usah berlelah lelah agar tampak baik di mata orang lain.

Syaikh Ali Ath-Thanthawi

ABSTRAK

Ikrima, Firda Makkiatul *, Hidayati, Sholihatil **,Purwanti, Aliyah ***. 2023.**Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Kualitas dan Kuantitas DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan Metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*).**Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.

Tanaman kelor merupakan tanaman yang menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beranekaragam, memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit. Dalam menganalisis molekuler membutuhkan tahapan awal yang harus dikerjakan sebelum melangkah ke proses selanjutnya yaitu isolasi DNA. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas DNA daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). Desain Penelitian ini menggunakan eksperimental laboratorium dan untuk mengetahui kualitas dan kuantitas isolasi DNA yaitu menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). Hasil rata-rata kualitas DNA yang diperoleh pada ini pada suhu -20°C yaitu $1,804 \pm 1,228$, pada suhu 3°C yaitu $1,825 \pm 1,191$ dan pada suhu 10°C yaitu $2,041 \pm 1,178$. Hasil rata-rata kuantitas DNA yang diperoleh pada suhu -20°C memiliki hasil $243,806 \pm 23,391$ ng/ μL , pada suhu 3°C memiliki hasil $154,011 \pm 5,733$ ng/ μL , dan pada suhu 10°C memiliki hasil $137,137 \pm 21,589$ ng/ μL . Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dari data analisis kualitas DNA menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap suhu penyimpanan sampel dan dari data kuantitas DNA menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap suhu penyimpanan sampel.

Kata kunci: Daun kelor, CTAB, suhu

- * Peneliti
- ** Pembimbing utama
- *** Pembimbing anggota

ABSTRACT

Ikrima, Firda Makkiatul *, Hidayati, Sholihatil **, Purwanti, Aliyah ***. 2023. **The Effect of Storage Temperature on the Quality and Quantity of DNA Of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam.) using the CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) Method.** Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, University of dr. Soebandi.

Moringa is a plant that produces secondary metabolites with various molecular structures and biological activities, which have excellent potential to be developed into drugs for various diseases. Molecular analysis requires an initial step that must be carried out before moving on to the next process, namely DNA isolation. The aim of this study was to determine the effect of storage temperature on the quality and quantity of Moringa leaf DNA (*Moringa oleifera* Lam.) using the CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) method. This research design uses laboratory experiments and to determine the quality and quantity of DNA isolation, the CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) method is used. The average results of DNA quality obtained at -20°C were 1.804 ± 1.228 , at 3°C they were 1.825 ± 1.191 and at 10°C they were 2.041 ± 1.178 . The average yield of the quantity of DNA obtained at -20°C was 243.806 ± 23.391 ng/μL, at 3°C it was 154.011 ± 5.733 ng/μL, and at 10°C it was 137.137 ± 21.589 ng/μL. In this study it can be concluded that from the data analysis the quality of DNA showed a significant effect on the temperature of sample storage and from the quantity data of DNA it showed asignificant effect on the temperature of sample storage.

Keywords: Moringa leaves, CTAB, temperature

* Author
** Main advisor
*** Member advisor

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Suhu Penyimpan terhadap Kualitas dan Kuantitas DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan Metode CTAB(*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*)”.

Selama penulisan skripsi ini penulis mendapatkan bimbingan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat terlaksana dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Andi Eka Pranata S.ST.,S.Kep., Ns., M.Kes. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. apt. Lindawati Setyaningrum., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti,S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu KesehatanUniversitas dr. Soebandi
4. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm. selaku Pembimbing Utama
5. Aliyah Purwanti, M.Si. selaku Pembimbing Anggota
6. Jenie Palupi, S. Kp., M. Kes selaku Ketua Penguji

Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
SKRIPSI.....	v
PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xivv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat bagi Penelitian Lain	5
1.4.3 Manfaat bagi Institusi Lain	5
1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Kelor	8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor.....	8
2.1.2 Nama Daerah Tanaman Kelor	8
2.1.3 Morfologi Tanaman Kelor	9
2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kelor	13
2.1.5 Khasiat Tanaman Kelor	13
2.1.6 Tinjauan Daun Kelor dari Sisi Genetika	15
2.2 <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i> (DNA).....	16
2.3 Isolasi DNA	17
2.3.1 Definisi Isolasi DNA.....	17
2.3.2 Langkah - langkah Isolasi DNA	18
2.3.3 Faktor Keberhasilan Isolasi DNA.....	21
2.3.4 Metode Isolasi DNA	21
2.4 Spektrofotometer UV-VIS	26

BAB 3 KERANGKA KONSEP	32
3.1 Kerangka Konsep.....	32
3.2 Hipotesis Penelitian	33
BAB 4 METODE PENELITIAN	34
4.1 Desain Penelitian	34
4.2 Populasi dan Sampel	34
4.2.1 Populasi Penelitian.....	34
4.2.2 Sampel Penelitian	35
4.3 Variabel Penelitian.....	35
4.3.1 Variabel Bebas.....	35
4.3.2 Variabel Terikat	35
4.4 Tempat Penelitian	36
4.5 Waktu Penelitian.....	36
4.6 Definisi Operasional	36
4.7 Teknik Pengumpulan Data	37
4.7.1 Determinasi Tanaman	37
4.7.2 Preparasi Sampel	37
4.7.3 Isolasi DNA.....	37
4.7.4 Analisis Kualitas DNA.....	40
4.7.5 Analisis Kuantitas DNA.....	40
4.8 Analisa Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	42
5.1 Hasil Determinasi Tanaman	42
5.2 Kualitas DNA	42
5.3 Kuantitas DNA	45
BAB 6 PEMBAHASAN	48
6.1 Kualitas DNA	48
6.2 Kuantitas DNA	52
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
7.1 Kesimpulan.....	55
7.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian	6
Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	36
Tabel 5.1 Hasil Kualitas DNA.....	42
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Kualitas DNA.....	43
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas Kualitas DNA	43
Tabel 5.4 Hasil Uji ANOVA Kualitas DNA	44
Tabel 5.5 Hasil Uji LSD Kualitas DNA	44
Tabel 5.6 Hasil Kuantitas DNA.....	45
Tabel 5.7 Hasil Uji Normalitas Kuantitas DNA.....	46
Tabel 5.8 Hasil Uji Homogenitas Kuantitas DNA	46
Tabel 5.9 Hasil Uji ANOVA Kuantitas DNA	46
Tabel 5.10 Hasil Uji LSD Kuantitas DNA.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Akar Kelor.....	9
Gambar 2.2 Batang Kelor.....	10
Gambar 2.3 Daun Kelor	10
Gambar 2.4 Bunga Kelor	11
Gambar 2.5 Buah Kelor	12
Gambar 2.6 Biji Kelor.....	12
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi Tanaman	60
Lampiran 2 Pembuatan <i>buffer</i> CTAB	61
Lampiran 3 Isolasi DNA	62
Lampiran 4 Pengukuran Kualitas dan Kuantitas	65
Lampiran 5 Analisis Data.....	66

DAFTAR SINGKATAN

Abs	: Absorbansi
C	: <i>Celcius</i>
CTAB	: <i>Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide</i>
cm	: <i>centi meter</i>
EDTA	: <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>
LSD	: Least Significant Difference
M	: <i>molaritas</i>
m	: meter
NaCl	: <i>Natrium Clorida</i>
nm	: <i>nanometer</i>
μL	: <i>mikroliter</i>
mL	: <i>mililiter</i>
rpm	: <i>rotations per minute</i>
ng	: nanogram
sig	: signifikan
<i>p</i>	: probabilitas

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Krisnadi (2015) dari tiga belas spesies genus *Moringaceae* yang paling terkenal yaitu species *Moringa oleifera Lam.* yang biasa kita sebut dengan tanaman kelor. Di perkirakan sejarahnya dari Agra dan Oudh, terletak di barat laut India, wilayah pegunungan Himalaya bagian selatan. Dalam kitab "Shushruta Sanhita" yang ditulis pada awal abad pertama Masehi telah menyebutkan "Shigon" adalah nama untuk tanaman kelor.

Tanaman kelor dapat tumbuh di dataran rendah hingga dataran tinggi yaitu 700 m di atas permukaan laut. Tanaman kelor merupakan salah satu tanaman perdu yang memiliki ketinggian 7-12 m, tahan terhadap musim kering dan mudah dibiakkan serta tidak membutuhkan perawatan yang intensif. Di Indonesia, tanaman kelor memiliki beragam nama di beberapa daerah di antaranya kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggi (Madura), moltong (Flores), kelo (Bugis), ongi (Bima), murong atau barungai (Sumatera) dan hau fo (Timor) (Luluk S, 2021).

Daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) mengandung nutrisi yang baik untuk tubuh manusia seperti protein, vitamin, kalsium, potasium, zat besi, T- karoten, asam amino fenolat dan berbagai asam amino essensial lainnya dalam jumlah yang sangat tinggi, mudah dicerna dan dapat dengan mudah diserap oleh tubuh manusia. Kelor juga mengandung mineral penting, menyediakan kombinasi yang kaya dan langka dari zeatin, quercetin, sitosterol, asam

caffeoylquinic dan *kaempferol*. Selain khasiatnya sebagai pemurni air yang efektif dan nilai gizinya yang tinggi, kelor merupakan obat alami yang sangat penting. Bagian tanaman kelor seperti daun, akar, biji, kulit kayu, buah, bunga dan polong dewasa, berperan sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodic, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, anti-diabetik, hepatoprotektif, antibakteri dan antijamur (Krisnadi, 2015).

Tanaman kelor menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beranekaragam, memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit. Dalam menganalisis molekuler membutuhkan tahapan awal yang harus dikerjakan sebelum melangkah ke proses selanjutnya yaitu isolasi DNA. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein, karbohidrat, maupun lemak. Isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia. Secara fisik sel dipecah dengan kekuatan mekanik yaitu secara *freeze thaw*, *bead mill homogenization* dan resonansi misalnya dengan sonikasi yaitu teknologi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Sedangkan secara kimia sel dirusak dengan *buffer* lisis berisi senyawa kimia yang dapat merusak integritas barrier dinding sel (Murtiyaningsih, 2017).

Isolasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode berdasarkan tingkat modernnya, bisa secara konvensional maupun menggunakan kit. Isolasi DNA

secara konvensional bisa dilakukan antara lain dengan metode CTAB/NaCl, metode SDS, dan metode fenol kloroform (Fitriya *et al*, 2015).

Metode isolasi DNA dengan CTAB akan menghasilkan pita DNA yang berukuran tebal dan dapat memisahkan DNA dari polisakarida karena adanya perbedaan karakteristik kelarutan. Metode ini tidak membutuhkan biaya yang lebih mahal dibandingkan dengan menggunakan kit. Selain itu, kelebihan dari isolasi ini adalah pita DNA yang diperoleh lebih tebal bila dibandingkan dengan ekstraksi metode fenol dan tanpa fenol (Triani, 2020).

Keberadaan DNA pada organisme secara kualitatif dan secara kuantitatif dapat ditentukan dengan spektrofotometri Uv-Vis. dengan Pengujian DNA kuantitatif adalah analisis untuk mengetahui kandungan DNA yang terkandung dalam zat yang diketahui memiliki DNA plasmid dalam larutan sampel atau komponen zat melalui pengujian kualitatif (Sinaga, 2010).

Prosedur isolasi DNA tanaman umumnya menyarankan penggunaan nitrogen cair selama penggerusan sampel jaringan tanaman. Nitrogen cair memiliki fungsi membekukan jaringan sehingga lebih mudah dalam penggerusan. Penggunaan nitrogen cair memiliki kelemahan antara lain bila jaringan tanaman telah terpapar nitrogen cair maka jaringan tersebut tidak boleh mencair (*thawing*) sebelum diekstraksi (Retnaningati, 2020).

Nitrogen cair ini jarang digunakan di negara berkembang karena harganya mahal serta membutuhkan tempat pendingin khusus untuk penyimpanan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, penggunaan nitrogen cair tidak berpengaruh signifikan terhadap hasil isolasi DNA, sehingga penggunaan nitrogen cair tidak

mutlak dilakukan. Sebagai pengganti nitrogen cair, sampel disimpan pada lemari pendingin/*freezer* dengan variasi suhu yang telah ditentukan (Retnaningati, 2020)

Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA daun kelor dengan menggunakan metode CTAB pada penyimpanan sampel.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kualitas hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan metode CTAB?
- 2) Bagaimana pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kuantitas hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan metode CTAB?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan metode CTAB.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi kualitas hasil isolasi daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan metode CTAB terhadap pengaruh suhu penyimpanan sampel.

- 2) Menganalisis kuantitas hasil isolasi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan menggunakan metode CTAB terhadap pengaruh suhu penyimpanan sampel.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi Peneliti

Untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan menggunakan metode CTAB pada penyimpanan sampel.

1.4.2 Manfaat bagi Penelitian Lain

Penelitian ini diharapkan menjadi dasar dan acuan dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan menggunakan metode CTAB yang sederhana dari bahan serta dapat digunakan untuk mendapatkan informasi dan referensi.

1.4.3 Manfaat bagi Institusi Lain

Penelitian ini diharapkan dapat memberi kontribusi penambahan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kefarmasian terkait pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas DNA pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode CTAB, dapat menjadi bahan bacaan di perpustakaan, serta dapat menjadi referensi bagi mahasiswa lain.

1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam bidang molekuler terkait pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas dan kuantitas

hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan menggunakan metode CTAB.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Nama Peneliti	Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Ferniah dan Pujiyanto	2013	Optimasi Isolasi DNA Cabai (Capsicum annuum L.) Berdasar Perbedaan Kualitas dan Kuantitas Daun serta Teknik Penggerusan	Metode : CTAB (<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>) Sampel : Daun cabai Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun yang telah didinginkan pada suhu -20°C, dengan berat daun saat segar 0,1 gram, dan penggerusan dalam mortar menghasilkan DNA lebih banyak daripada isolasi dari daun segar dan penggerusan dalam mikrotube
Khumairoh., et al.	2016	Teknik Isolasi DNA Total pada Tumbuhan Tuntun Angin (<i>Elaeocarpus floribundus</i>) dari Provinsi Riau	Metode : CTAB (<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>) Sampel : Daun tuntun angin Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai kualitas DNA total daun Tuntun Angin menunjukkan pita yang jelas, nilai yang diperoleh cukup baik, pita DNA yang diperoleh utuh dan tebal.
Deanesia., et al.	2017	Isolasi Dna Tanaman Padi (<i>Oryza sativa</i> L.) asal Kecamatan Bantan, Bengkalis – Riau	Metode : CTAB (<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>) Sampel : Daun padi Hasil : Hasil penelitian ini mendapatkan molekul DNA total dari lima varietas padi. DNA total yang diperoleh pada varietas padi IR64 dan Amat Candu utuh dan memiliki konsentrasi sangat tinggi. Pada varietas padi Mahsuri, Korea dan Sadani DNA total yang diperoleh juga utuh tetapi konsentrasinya cukup tinggi.
Nova Triani	2020	Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan menggunakan Metode CTAB (<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>)	Metode : CTAB (<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>) Sampel : Daun Jeruk Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa angka kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh dengan menggunakan metode CTAB lebih efektif pada isolasi DNA tanaman jeruk dibandingkan menggunakan metode Kit. Nilai rata-rata penelitian ini berkisar

antara 1,4-2,0 nm.

Nurul Iqsan., <i>et al.</i>	2020	Perbandingan antara Kualitas DNA Daun Menggunakan Metode Kit (Promega) dan Metode Manual (CTAB)	Metode : Kit (Promega) dan CTAB Sampel : Daun kelapa sawit Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa angka kemurnian DNA daun kelapa sawit dengan menggunakan metode Kit dari 30 sampel hanya ada 3 sampel yang memiliki nilai kemurnian antara 1,8-2,0 yaitu 0,694-2,261. Sedangkan, hasil yang didapatkan dengan metode manual (CTAB) yaitu tidak ada satupun sampel yang menunjukkan nilai kemurnian antara 1,8-2,0 kemurnian yang di peroleh yaitu 1,299-1,646.
--------------------------------	------	--	---

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor

Berikut adalah klasifikasi dari tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menurut Krisnadi (2015):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lam.

2.1.2 Nama Daerah Tanaman Kelor

Di Indonesia tanaman kelor memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerah, diantaranya kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggih (Madura), moltong (Flores), kelo (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggai (Sumatera) dan hau fo (Timur). Kelor atau yang dikenal dengan nama *Drumstick* yang merupakan tanaman asli kaki gunung Himalaya bagian barat laut India,

Afrika, Arab, Asia Tenggara, Amerika Selatan (Vanajakshi *et al*, 2015; Shah *et al*, 2015).

Sekarang ini kelor dikenal di 82 negara dengan 210 nama yang berbeda, diantaranya moringa, horseradish tree, drumstick, mrum (Cambodia), Ben ailé (Perancis), tree West Indian Ben (Inggris), sajina (Bangladesh), kelor, marunga (Indonesia), dandalonbin, (Myanmar), malunggay (Philippines), ‘ii h’um (Laos), meringgai, gemunggai, kelor (Malaysia), marum, phakihum, dan makhonkom (Thailand) (Mardiana, 2013).

2.1.3 Morfologi Tanaman Kelor

1) Akar (*radix*) Tanaman Kelor



Gambar 2.1 Akar Kelor (Krisnadi, 2015).

Tanaman kelor memiliki akar tunggal tunggal yang membesar dan berwarna putih seperti lobak. Kulit akarnya pedas dan memiliki bau yang menyengat. Permukaan bagian dalam berwarna kuning muda, memiliki lebih banyak serat, bergaris halus, terang dan melintang, tidak keras, dan bentuknya tidak beraturan. Sedangkan permukaan luarnya lebih halus, kayunya berwarna coklat muda atau kuning pucat, dan sebagian besar kayunya terpisah (Krisnadi, 2015).

2) Batang (*caulis*) Tanaman Kelor



Gambar 2.2 Batang Kelor (Krisnadi, 2015)

Kelor merupakan tanaman perdu dengan tinggi mencapai 7-12 m, tanaman berbatang yang terdiri atas batang berkayu, sehingga batangnya keras dan kuat. Bentuknya sendiri bulat (*teres*) dengan permukaan kasar. Arah pertumbuhannya lurus ke atas atau dikenal sebagai *Homo erectus*. Percabangan dari batang pohon adalah caranya percabangan uniaksial yang sulit di tentukan, karena dalam perkembangan selanjutnya, Batang utama berhenti tumbuh atau menjadi lebih kecil dan kalah cepat pertumbuhan nya dibandingkan dengan cabang. Orientasi cabang tegak (*fastigiatus*) karena sudut antara batang dan cabang sangat kecil, sehingga arah tumbuhnya cabang hanya sedikit lebih serong ke atas, tapi kemudian hampir sejajar dengan batangnya (Krisnadi, 2015).

3) Daun (*folium*) Tanaman Kelor



Gambar 2.3 Daun Kelor (Krisnadi, 2015).

Daun majemuk, bertangkai panjang, berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), hijau muda saat helai daun masih muda, hijau tua saat sudah dewasa, bentuk helai daun bulat telur, memiliki panjang 1-2 cm, lebar 1-2 cm, lunak, ujung dan pangkal daun tumpul (*obtusus*), tepi daun rata, susunan tulang daun menyirip (*pinnate*), dan permukaan atas dan bawah halus. Merupakan jenis daun bertangkai karena hanya terdiri dari tangkai dan helaian saja. Tangkai daunnya memiliki bentuk silinder, sisi atasnya pipih, alasnya menebal dan permukaannya halus. Bentuk daunnya bulat atau bundar (*orbicularis*). Ujung dan pangkal daunnya membulat (*rotundatus*) dimana ujungnya tumpul dan tidak membentuk sudut sama sekali, hingga ujungnya seperti busur. Susunan tulang daunnya menyirip (*penninervis*), dimana daun kelor memiliki satu tulang induk dari pangkal hingga ujung, dan merupakan lanjutan tangkai daun. Selain itu, tulang cabang tumbuh dari tulang induk ke arah samping, dan strukturnya seperti sirip ikan (Krisnadi, 2015).

4) Bunga (*flos*) Tanaman Kelor



Gambar 2.4 Bunga Kelor (Krisnadi, 2015)

Bunga kelor muncul di ketiak daun (*axillaris*), memiliki tangkai panjang, kelopak bunga berwarna putih kekuningan berkumpul di pucuk-pucuk baru pada

organ ketiak, tudung pelepah bunganya berwarna hijau, dan mengeluarkan aroma yang khas. Malai terkulai 10-15 cm, memiliki 5 kelopak yang mengelilingi 5 benang sari dan 5 staminodia. Bunga kelor bersemi sepanjang tahun dengan aroma bau yang semerbak (Krisnadi, 2015).

5) Buah atau Polong (*fructus*) Tanaman Kelor



Gambar 2.5 Buah Kelor (Krisnadi, 2015).

Kelor akan berbuah setelah berumur 12-18 bulan. Buah atau polong kelor mempunyai bentuk segi tiga memanjang yang biasanya disebut klentang (Jawa) dengan panjang 20-60 cm, saat muda berwarna hijau setelah tua menjadi coklat (Krisnadi, 2015).

6) Biji (*semen*) Tanaman Kelor



Gambar 2.6 Biji Kelor (Krisnadi, 2015)

Biji kelor berbentuk bulat berwarna coklat kehitaman dengan ukuran 1 cm, dan terdapat 3 selaput putih disetiap sudutnya. Ketika masih muda

berwarna hijau terang dan berubah berwarna coklat kehitaman ketika polong matang dan mengering. Saat kering polong membuka menjadi 3 bagian. Dalam setiap polong rata-rata berisi antara 12 sampai 35 biji (Krisnadi, 2015).

2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kelor

Tanaman kelor telah dimanfaatkan selama berabad-abad di Asia dan di banyak bagian Afrika. Banyak yang menyebutkan bahwa pohon ini sebagai "*dinamit gizi*" karena kandungan nutrisi esensialnya yang tinggi seperti zat besi, kalsium dan vitamin A. Kelor digunakan sebagai bahan utama dalam ratusan obat untuk pencegahan maupun pengobatan. Salah satunya adalah karena adanya kandungan senyawa *novel isothiocynate*, yang merupakan kelas fitokimia yang tersedia secara hayati yang dilaporkan ditemukan dalam daun dan polong Kelor. Kelor diakui oleh komunitas ilmiah sebagai tanaman paling padat nutrisi yang pernah ditemukan. Tanaman kelor mengandung lebih banyak vitamin, mineral, anti-oksidan paling kuat, asam amino esensial lengkap dan senyawa menakjubkan lainnya (Krisnadi, 2015).

2.1.5 Khasiat Tanaman Kelor

Menurut Krisnadi (2015) Bagian tanaman kelor seperti daun, akar, biji, kulit kayu, buah, bunga dan polong dewasa, berperan sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodic, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetik, hepatoprotektif, antibakteri dan antijamur. Manfaat bagian-bagian tanaman kelor antara lain :

1) Akar

Akar kelor berfungsi sebagai anti kalkulus (mencegah/menghancurkan pembentukan batu saluran kencing), kemerahan (*eritematosa*), menghilangkan kutil (*vesicant*), perut kembung (*karminatif*), anti kesuburan, anti inflamasi (peradangan), stimulan untuk penderita lumpuh, sebagai tonikum/ memperlancar peredaran darah di jantung, digunakan sebagai obat pencahar, penggugur kandungan, pengobatan rematik, radang, nyeri sendi, sakit pinggang atau ginjal dan sembelit.

2) Daun

Daun kelor digunakan sebagai obat pencahar, sebagai tapal untuk luka, di oleskan pada dahi untuk sakit kepala, dan sebagai kompres untuk demam, sakit tenggorokan, mata merah, bronkitis, infeksi telinga, kudis, dan masuk angin. Jus dari daun diduga mengontrol kadar glukosa dan digunakan untuk mengurangi pembengkakan kelenjar.

3) Batang

Batang berkhasiat sebagai *rubefacient* (obat kulit kemerahan), *vesicant* (menghilangkan kulit), menyembuhkan penyakit mata, pengobatan pasien mengigau, mencegah pembesaran limpa, pembentukan kelenjar TB leher (gondok), untuk menghancurkan tumor dan untuk menyembuhkan bisul.

4) Getah

Dimanfaatkan sebagai karies gigi, dan zat *rubefacient* (obat kulit kemerahan), meredakan sakit kepala, demam, keluhan usus, disentri, asma dan biasanya digunakan sebagai aborsi, serta untuk mengobati *sifilis* dan rematik.

5) Bunga

Memiliki nilai khasiat obat yang sangat tinggi sebagai stimulus (pendorong), *afrodisiak*, aborsi, *cholagogue*, digunakan untuk menurunkan kolesterol, *fosfolipid* serum, *trigliserida* dan indeks *aterogenik*; menyembuhkan radang, penyakit otot, histeria, tumor, pembesaran limpa, menurunkan profil lipid hati, jantung dan aorta pada kelinci *hiperkolesterol* dan meningkatkan ekskresi kolesterol dalam feses.

6) Biji

Ekstrak biji berfungsi untuk memberikan efek perlindungan yang dapat menurunkan *lipid peroksida* hati, antihipertensi, senyawa *isothiocyanate thiocarbamate* dan *glycosids* telah diisolasi dari fase asetat dari ekstrak etanol polong kelor.

2.1.6 Tinjauan Daun Kelor dari Sisi Genetika

Analisis keanekaragaman genetik tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) berdasarkan penanda CTAB tujuannya adalah untuk mendapatkan keragaman pola pita DNA tanaman kelor dan pengelompokan pola pita DNA. Analisis keragaman genetika bertujuan untuk mencari tahu keanekaragaman genetik dan hubungan1hubungan antara tanaman yang akan dipelajari (Ballo *et al*, 2020).

Tanaman kelor memiliki kromosom diploid sejati $2n = 28$ dengan daun majemuk ganda tiga (*tripinnate*) yang dibedakan memiliki guratan tangkai daun berwarna kuning atau putih (M. G. Mgendi *et al*, 2010)

DNA yang berada di kloroplas, yang merupakan organel fotosintesis di beberapa sel eukariotik disebut juga DNA Kloroplas (cpDNA). Kloroplas seperti

jenis plastida lainnya, mengandung genom yang terpisah dari genom didalam nukleus. Penemuan bahwa kloroplas mengandung ribosom dan melakukan sintesis protein mengungkapkan bahwa kloroplas secara genetik bersifat semi-otonom. Setiap kloroplas mengandung sekitar 100 salinan DNA pada daun muda, dan berkurang menjadi 15-20 salinan pada daun tua. Salinan tersebut biasanya dikemas menjadi nukleolus, yang dapat berisi beberapa cincin DNA kloroplas yang identik. Banyak nukleosida dapat ditemukan di setiap kloroplas (Heldt *et al*, 2005)

2.2 Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)

Secara etimologi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) tersusun dari kata-kata “*deocryibosa*” yang mempunyai arti gula pentosa, “*nucleid*” dalam bahasa Indonesia disebut nukleat yang berasal dari kata “*nucleus*” yang berarti inti, dan “*acid*” berarti zat yang asam. Secara terminologi DNA adalah penggabungan senyawa kimia yang membawa keterangan genetik dari sel atau dari makhluk dalam keseluruhannya dari satu generasi ke generasi berikutnya. DNA adalah molekul utama kehidupan. Instruksi yang mengatur pertumbuhan dan pembelahan sel disandikan oleh DNA (Afifah, 2020).

H.M. Nurcholis Bakry percaya bahwa DNA mengandung informasi genetik suatu makhluk hidup yang akan mengatur program genetik selanjutnya. Aisjah Girindra membuat point yang sama bahwa asam nukleat atau yang biasa dikenal dengan DNA itu bertanggungjawab untuk menyimpan dan mentransfer informasi genetik dan kemudian menerjemahkan informasi tersebut dengan benar.

Unit terkecil yang membawa setiap informasi genetik disebut dengan gen, yang ukurannya sangat bervariasi tergantung dari jenis informasi penyandi protein. Dengan demikian, dapat dipahami bahwa DNA adalah susunan kimia makro molekuler yang terdiri dari tiga jenis molekul, yaitu: gula pentosa, asam pospat dan basa nitrogen, terutama di dalam nukleus hidup yang akan mengatur program generasi berikutnya.

DNA merupakan suatu material yang mengandung informasi genetik yang diwariskan setiap organisme hidup dari satu generasi ke generasi berikutnya. DNA yang ditemukan di nukleus disebut DNA inti, sedangkan DNA yang ditemukan di mitokondria disebut DNA mitokondria (mtDNA). DNA merupakan molekul panjang yang terdiri dari empat basa nitrogen yaitu adenin, guanin, sitosin, dan timin. Setiap basa nitrogen terikat pada gula dan fosfat, yang disebut nukleotida yang tersusun berbentuk *spiral* atau *double helix*. Rangkaian gula dan gugus fosfat kedua rantai nukleotida sama, tetapi memiliki arah yang berbeda (3'-5' dan 5'-3') bagian ini disebut juga dengan backbone chain (rantai tulang punggung) (Buwono, 2018).

2.3 Isolasi DNA

2.3.1 Definisi Isolasi DNA

Isolasi DNA mengacu pada perolehan DNA murni yang belum tercampur dengan komponen seluler lain seperti protein, karbohidrat atau lemak. Tahapan untuk isolasi DNA dimulai dari isolasi jaringan, pemecahan dinding dan membran sel, pengestraksian dalam larutan *buffer*, pengendapan dan pencucian DNA.

Selain itu, DNA harus dipisahkan (purifikasi) dari sisi seluler lainnya agar dapat dicampur dengan *buffer* ekstraksi. Isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia. Secara fisik sel dipecah dengan kekuatan mekanik yaitu secara *freeze thaw*, *bead mill* homogenization dan resonansi misalnya dengan sonikasi yaitu teknologi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Sedangkan secara kimia sel dirusak dengan buffer lisis mengandung senyawa kimia yang dapat merusak integritas *barrier* dinding sel, misalnya SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) dan CTAB (*Cetyl Trimethyl ammonium bromide*) (Murtiyaningsih, 2017).

Prinsip dasar isolasi DNA pertama secara fisik menghancurkan sel yang dapat dilakukan dengan teknik sonikasi, *grinding/giling*, cacah atau dengan tekanan tinggi agar sel hancur. Namun, langkah ini sering mengakibatkan DNA terpotong-potong sehingga kemurnian DNA kurang atau dapat diberikan secara enzimatis/kimia dengan detergen. Sabun akan melarutkan lipid membran sel dan bertindak sebagai penghambat DNase dan dapat mendenaturasi protein dari larutan uji. Detergen yang biasa digunakan sebagai pelarut lisis sel bersifat anionik seperti SDS (*Sodium Dodecyl Sulfat*) atau Sarkosil (*Sodium Dodecyl Sarkosinat*) (Puspitaningrumet *al*, 2018).

2.3.2 Langkah-langkah Isolasi DNA

Langkah-langkah dalam proses isolasi DNA adalah ekstraksi dan pelisisan sel yang dilakukan secara mekanis atau kimiawi dengan cara penggerusan serta penggunaan garam dan detergen. Isolasi DNA diantaranya tahap lisis, presipitasi dan purifikasi (pemurnian). Pembelahan protein dengan

enzim proteinase dan presipitasi DNA dari bahan yang lain yang tidak diinginkan menggunakan isopropanol, etanol atau alkohol dingin. Proses presipitasi yang akan mengendapkan DNA sehingga DNA menggumpal membentuk suatu *fiber* (serat) (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

1) Lisis

Langkah pertama dalam isolasi DNA adalah lisis atau proses perusakan atau penghancuran membran dan dinding sel. Pemecahan sel (lisis) dinding sel yang telah terdegradasi menyebabkan DNA beserta isi sel dilepaskan. DNA yang masih tercampur dengan kontaminan dipisahkan melalui proses ekstraksi. Kontaminan yang bercampur dengan DNA antarlain lemak, polisakarida, fenolik dan protein. Proses isolasi DNA biasanya menggunakan pelarut organik seperti *Chloroform Isoamylalcohol* (CIAA). Kloroform mendenaturasi protein sedangkan isoamil alkohol untuk menghilangkan busa (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

Langkah selanjutnya yaitu penambahan larutan organik menyebabkan campuran membentuk lapisan. Lapisan atas (supernatan) mengandung DNA dan RNA karena bersifat polar oleh muatan negatif atom Oksigen pada gugus fosfat yang berinteraksi dengan muatan dipole positif air. Sehingga meningkatkan kelarutan DNA di air. Protein terdenaturasi akan masuk di antara lapisan organik dan air. Kepadatan CIAA tertinggi ada di bagian bawah tabung setelah sentrifugasi. Lemak dan protein nonpolar mudah larut dalam kloroform sehingga terdistribusi pada lapisan bawah. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan teknik pemisahan bahan berdasarkan berat molekul dengan kecepatan

tertentu. Teknik ini digunakan untuk pemisahan atau pemurnian protein, partikel dan organel seluler yang sedimentasi menurut bentuk dan relatifnya. Partikel biasanya tersuspensi dalam media tertentu yang dimasukkan ke dalam tabung di tengah *drive shaft* (proses peggerak) sentrifugal (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

2) Presipitasi

Proses presipitasi DNA adalah proses pengendapan DNA. Pengendapan DNA dibantu oleh etanol *absolute*/isopropanol atau garam ammonium asetat. Etanol absolut/isopropanol dingin akan memekatkan DNA dan menghilangkan residu kloroform. DNA yang bercampur etanol dingin akan menggumpal dan membentuk *pellet* pada lapisan dasar. Etanol/isopropanol menghilangkan air disekitarnya (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

Selama fase presipitasi ini, DNA yang terpresipitasikan terpisahkan dari residu RNA dan protein yang tersisa. Tahap presipitasi dilakukan dengan menambahkan larutan presipitasi protein dan kemudian divorteks untuk menghomogenkan larutan. Larutan presipitasi protein terdiri dari amonium asetat, yang bila terikat dengan protein membentuk senyawa baru dengan kelarutan lebih rendah, sehingga menyebabkan pengendapan protein. Larutan kemudian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Prinsip utama sentrifugasi adalah menggunakan gaya sentrifugal untuk memisahkan zat menurut berat molekul sehingga zat yang lebih berat berada di bawah dan zat yang lebih ringan berada di atas (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

3) Purifikasi

Proses purifikasi atau pemurnian hasil isolasi DNA membentuk pellet DNA. Pencucian ini penting karena pellet DNA yang dihasilkan masih mengandung sisa kontaminan dari bahan-bahan lain dari organisme tersebut. Untuk pencucian DNA biasanya digunakan alkohol absolut atau etanol 70%. Pellet DNA yang telah murni dilarutkan dengan buffer TE bertujuan untuk menjaga sampel DNA tetap stabil (Zulfarina dan Mahadi, 2019).

2.3.3 Faktor Keberhasilan Isolasi DNA

Menurut Nugroho *et al*, (2016) banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses isolasi DNA antara lain pemilihan jenis jaringan tanaman yang digunakan dan umur tanaman, penanganan dan penyimpanan jaringan sebelum isolasi DNA, dan perlakuan homogenasi jaringan, terutama pada jaringan tumbuhan yang dinding selnya banyak mengandung senyawa polisakarida.

Menurut Syafaruddin dan Santoso (2011) terdapat tiga faktor penentu dalam proses ekstraksi dan pemurnian DNA secara optimal antara lain proses homogenisasi jaringan tanaman, komposisi larutan buffer pada saat penggerusan daun/jaringan tanaman sampel, dan penghilangan senyawa polisakarida.

2.3.4 Metode Isolasi DNA

Beberapa metode dapat digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman. Pada metode pertama, sel-sel tanaman dilisiskan dengan detergen ionik, diolah dengan protease dan dimurnikan dengan sentrifugasi. Metode kedua menggunakan deterjen nonionik *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) untuk melisiskan sel dan memurnikan asam nukleat. Asam nukleat diperoleh dengan presipitasi isopropanol atau etanol. Metode pertama melalui proses yang sangat panjang dan

mendapatkan hasil asam nukleat yang sangat murni. Metode kedua memerlukan beberapa pengoptimalan tetapi tetap cocok digunakan dalam isolasi dan lebih banyak digunakan karena bersifat fleksibel. Sampel sebaiknya diletakkan disimpan di tempat gelap selama 1-2 hari untuk mengurangi kandungan pati pada jaringan. Sampel diambil dari tanaman yang lebih muda karena memiliki kandungan polisakarida yang lebih sedikit sehingga menghasilkan kualitas dan hasil DNA yang lebih baik daripada tanaman yang lebih tua (Saravanaperumal and Terza, 2012).

Isolasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode berdasarkan tingkat modernnya, bisa secara konvensional maupun menggunakan kit. Isolasi DNA secara konvensional bisa dilakukan antara lain dengan metode Phenolchloroform, dan metode CTAB (Fitriyael *et al*, 2015).

1) Metode Phenolchloroform

Menurut Hutami *et al.* (2017) Metode konvensional dalam isolasi DNA diantaranya adalah metode isolasi menggunakan phenolchloroform. Metode ini membutuhkan beberapa langkah tambahan bahan kimia dan membutuhkan waktu pengerjaan yang sangat lama. Seiring dengan perkembangan teknologi, proses isolasi DNA juga telah dikembangkan dan dimodifikasi agar lebih efisien. Modifikasi proses ekstraksi DNA adalah penggunaan kit ekstraksi komersial yang sudah berisi campuran bahan yang dibutuhkan untuk proses ekstraksi, dengan waktu proses yang cukup singkat (± 2 jam).

Metode isolasi phenolchloroform merupakan metode isolasi fase cair. Metode isolasi phenolchloroform secara umum terdiri dari tiga langkah yaitu

proses lisis sel, pemisahan DNA dan pemurnian DNA. Proses lisis sel dilakukan secara kimiawi dengan penambahan detergen *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) dan enzimatis dengan penambahan proteinase-K pada tahap awal isolasi. Penambahan SDS berperan melarutkan lipid pada membran sel, mendestabilisasi membran sel dan mengikat protein dan polisakarida pada membran sel sehingga membuka membran sel. Selain perannya dalam penghancuran sel, penambahan SDS juga berperan untuk mengurangi aktivitas nuklease (enzim pendegradasi DNA). Bersamaan dengan itu, enzim proteinase-K bertindak memecah gugus karboksil asam amino dalam ikatan peptida, sehingga menonaktifkan lapisan peptidoglikan dinding sel. Proses lisis dilakukan dalam larutan salt tris EDTA. Tris berperan sebagai buffer untuk mencegah kerusakan DNA dengan mempertahankan pH pada kondisi normal (yaitu pH 8). Sedangkan EDTA berperan sebagai *chelating agent* yang dapat mengikat ion logam bermuatan positif pada membran sel seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+} sehingga membran sel mudah terurai (Hutami *et al*, 2017).

2) Metode CTAB

Metode *Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide* (CTAB) adalah metode yang biasanya digunakan dalam isolasi DNA genom tanaman yang banyak mengandung polisakarida dan senyawa polifenol. Senyawa CTAB merupakan jenis surfaktan kationik yang digunakan dalam proses pembelahan dinding sel tanaman. Metode CTAB memiliki kelebihan yaitu tidak membutuhkan biaya yang mahal dibandingkan menggunakan metode kit. Selain itu, metode ini juga memiliki kemampuan melisiskan yang kuat dan memudahkan

mempresipitasi protein dan debris sel, sehingga dapat menghasilkan konsentrasi DNA yang tinggi. Adapun kekurangan metode CTAB yaitu membutuhkan waktu yang relatif lama dan hasil yang diperoleh tergantung pada jenis sampel yang digunakan. Produk isolasi DNA yang berkualitas baik ditunjukkan dengan pita DNA yang terlihat tebal dan bersih saat divisualisasikan menggunakan teknik elektroforesis (Bohme K *et al*, 2019).

Prinsip isolasi DNA menggunakan metode CTAB meliputi proses lisis sel, ekstraksi, presipitasi dan purifikasi. Proses lisis merupakan proses perusakan dinding sel sehingga semua isi sel keluar. Keberhasilan proses lisis ditentukan oleh komposisi bufer lisis yang digunakan (Liana, 2017). Komposisi bufer lisis dalam metode CTAB yaitu, surfaktan CTAB, NaCl, EDTA, dan Tris-HCl.

1. Surfaktan CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*)

Surfaktan CTAB memiliki beberapa fungsi (Liana, 2017) sebagai berikut :

a. Mendenaturasi lemak

Surfaktan memiliki gugus hidrofobik pada bagian ekor dan gugus hidrofilik pada bagian kepala. Membran terdenaturasi jika gugus hidrofobik dari surfaktan berinteraksi dengan lemak. Reaksi ini membentuk misel yang stabil dengan konsentrasi CTAB tertentu.

b. Mendenaturasi protein

CTAB adalah surfaktan kationik, karena bagian kepala bermuatan positif sehingga akan berinteraksi dengan muatan negatif protein. Surfaktan dengan protein akan berinteraksi secara ionik.

c. Memecah polisakarida menjadi monomer sederhana

CTAB berinteraksi dengan polisakarida secara hidrofobik membentuk senyawa kompleks.

2. NaCl (*Natrium Clorida*)

NaCl (*Natrium Clorida*) berfungsi untuk menghilangkan senyawa polisakarida. NaCl dengan konsentrasi lebih dari 0,5 M bersamaan dengan CTAB diketahui dapat menghilangkan polisakarida (Liana, 2017).

3. EDTA (*Ethylenediamine Tetraacetic Acid*)

EDTA berfungsi untuk melemahkan kekuatan dinding sel karena dapat mengkelat ion magnesium yang merupakan kofaktor enzim nuklease. Ion magnesium bekerja untuk mempertahankan integritas sel dan mempertahankan aktivitas enzim nuclease. EDTA akan mengikat ion magnesium agar aktivitasnya menurun (Liana, 2017).

4. Tris HCl

Tris HCl berfungsi untuk menyeimbangkan pH agar dapat mengekstraksi asam nukleat. Saat proses perusakan dinding sel, seluruh isi sel akan keluar beserta dengan DNA. DNA yang keluar akan masuk dalam bufer.

Dinding sel yang telah terdegradasi mengakibatkan DNA beserta seluruh isi sel keluar. DNA yang masih bercampur dengan kontaminan dipisahkan melalui proses ekstraksi. Kontaminan yang bercampur dengan DNA meliputi lemak, polisakarida, fenolik dan protein. Proses isolasi DNA biasanya menggunakan pelarut organik seperti kloroform dan isoamil alkohol.

Kloroform mendenaturasi protein sedangkan isoamil alkohol untuk menghilangkan busa (Liana, 2017).

3) Metode Kit

Metode isolasi DNA menggunakan Kit (*Promega*) merupakan metode yang dibuat oleh perusahaan Promega Corporation dan Kit ekstraksinya. Metode ini telah teruji hasilnya dalam mengisolasi DNA baik dari segi kuantitas dan kualitas DNA yang didapatkan. Kekurangan dari penggunaan metode Kit (*Promega*) ini membutuhkan biaya cukup tinggi (Mulyani *et al*, 2011).

2.4 Spektrofotometer UV-VIS

1) Definisi Spektrofotometer UV-Vis

Instrumen yang berfungsi untuk mengukur energi secara proporsional ketika energi ditransmisikan, dipantulkan atau dipancarkan disebut spektrofotometer. Spektrofotometer adalah kombinasi dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah instrumen yang menghasilkan cahaya pada panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang diserap (Neldawati, 2013). Spektrofotometer adalah instrumen yang berfungsi untuk mempelajari absorpsi (penyerapan) atau pancaran (emisi) radiasi elektromagnetik yang memanfaatkan fungsi panjang gelombang (Noviyanti, 2020). Spektrofotometer adalah instrumen yang mengukur penyerapan atau transmisi suatu bahan pada panjang gelombang tertentu. Spektrofotometer ini merupakan kombinasi dari instrumen elektronik dan

optik serta sifat fisik dan kimianya. Saat mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan diserap oleh detektor (Sembiring *et al*, 2019).

Spektrum elektromagnetik dibagi menjadi beberapa rentang cahaya. Atom atau molekul mengabsorpsi suatu rentang dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik mencakup berbagai panjang gelombang, dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi hingga gelombang mikro gelombang panjang. Spektrum absorpsi dalam rentang ultraviolet dan tampak biasanya terdiri dari satu atau lebih pita absorpsi yang luas, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam rentang UV-tampak. Oleh karena itu, mereka mengandung elektron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat tereksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang di mana penyerapan terjadi tergantung pada seberapa erat elektron terikat pada molekul. Elektron dari ikatan kovalen terikat erat dan radiasi dengan energi tinggi atau panjang gelombang pendek diperlukan untuk membangkitkannya (Mustikaningrum, 2015).

Panjang gelombang tertentu kemudian dipancarkan ke sampel yang mengandung zat pada konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, sebagian cahaya diserap (diabsorpsi) dan sebagian diteruskan. Setelah itu, detektor menerima cahaya yang terlewatkan. Detektor kemudian menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat dalam sampel, sehingga konsentrasi zat dalam sampel diketahui secara kuantitatif. Pengukuran spektrofotometer menggunakan spektrofotometer yang mengandung energi elektronik dalam jumlah besar pada

molekul yang dianalisis, oleh karena itu spektrofotometer UV-Vis lebih sering digunakan untuk analisis kuantitatif daripada analisis kualitatif. Spektrofotometer UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif (Suarsa, 2015).

Menurut Suarsa (2015) konsentrasi analit pada larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu memakai hukum Lambert-Beer yaitu menentukan hubungan linier antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitansi. Dalam hukum Lambert-Beer memiliki beberapa keterbatasan sebagai berikut:

1. Sinar yang digunakan dianggap monokromatik
2. Penyerapan terjadi dalam suatu volume dengan penampang yang sama
3. Senyawa yang diserap ke dalam larutan tersebut tidak tergantung pada senyawa lain dalam larutan
4. Tidak ada fluoresensi atau fosforisensi
5. Indeks bias tidak bergantung pada konsentrasi larutan.

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sebagai berikut :

$$A = e.b.c$$

dimana :

A = absorban

e = absorptivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Prinsip dasar spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid apalagi suspensi. DNA yang mengandung

basa purin dan pirimidin dapat menyerap sinar UV. Pita ganda DNA dapat menyerap sinar UV pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau fenolik dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang 280 nm. Dengan perbedaan serapan sinar UV tersebut, maka kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi panjang gelombang 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi panjang gelombang 280 nm (A_{260}/A_{280}) dan nilai kemurnian DNA berkisar antara 1.8-2.0 (Harahap, 2017).

Deteksi DNA kuantitatif dan kualitatif dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri. Ada beberapa metode antarlain spektrofotometri sinar tampak (*visible light*), spektrofotometer ultraviolet (sinar ultraviolet), spektrofotometer ultraviolet-tampak (*ultraviolet-visible light*) dan spektrofotometri inframerah (Perwitasari *et al.*, 2020).

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan sinar tampak yang diserap oleh sampel. Sinar UV dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis sering digunakan untuk mempelajari molekul dan ion anorganik atau kompleks di larutan. Spektrum UV-Vis memiliki bentuk yang luas dan sedikit informasi struktural yang diperoleh dari spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif. Sinar ultraviolet panjang Gelombang 200-400 nm, sedangkan cahaya tampak memiliki satu panjang gelombang 400-800 nanometer (Suarsa, 2015).

2) Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis

Dengan spektrofotometer UV-Vis, sampel yang dapat ditentukan seperti larutan, gas atau uap. Secara umum sampel harus diubah menjadi larutan bening terutama untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan (Suhartati, 2017) beberapa persyaratan pelarut yang digunakan misalnya:

1. Sampel harus larut sepenuhnya
2. Pelarut yang digunakan tidak mengandung ikatan berwarna terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh menyerap sinar yang digunakan oleh sampel).
3. Tidak ada interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
4. Kemurniannya harus tinggi.

3) Komponen Spektrofotometer UV-Vis

Menurut Mustikaningrum (2015) komponen utama Spektrofotometer, yaitu:

1. Sumber Sinar

Sumber Sinar yang sering digunakan pada Spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram, lampu hidrogen (*deoderium*). Lampu Wolfram digunakan untuk area fisisibel (tampak) sedangkan lampu hidrogen (*deoderium*) digunakan untuk sumber rentang UV.

2. Monokromator

Monokromator adalah seperangkat alat optik yang memisahkan radiasi polikromatik dan bekerja membentuk sinyal resonansi dari beberapa garis non-absorpsi yang dipancarkan oleh sumber radiasi.

3. Sel Sampel

Sel Sampel berfungsi sebagai titik pengambilan sampel, menggunakan kuvet sebagai titik masuk sampel.

4. Detektor

Peranan detektor penerima adalah merespon cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda. Detektor yang digunakan dalam UV-VS disebut "detektor fotolistik". Persyaratan-persyaratan penting untuk detektor adalah:

- a. Sensifitas tinggi sehingga energi cahaya dapat dideteksi bahkan pada tingkatan rendah sekalipun
- b. Waktu respon singkat
- c. Stabilitas panjang
- d. Sinar elektronik yang mudah dipahami dalam sistem pembacaan

5. Penguat atau Amplifier

Berfungsi untuk meningkatkan arus yang dihasilkan oleh detektor agar dapat dibaca oleh indikator

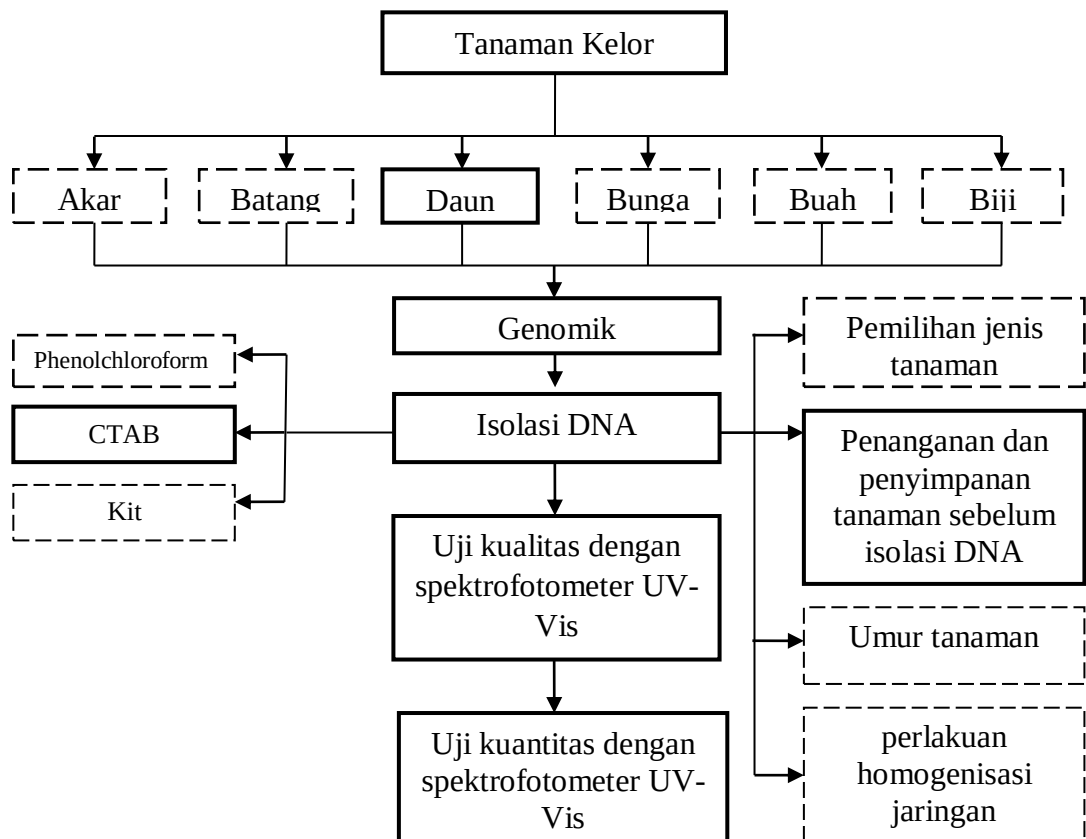
6. Indikator

Indikator dapat berupa rekorder dan komputer.

.

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

 : Tidak dilakukan penelitian

 : Dilakukan Penelitian

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis sendiri berasal dari Bahasa Yunani yaitu hupo dan thesis. Hupo memiliki arti sementara, sedangkan thesis memiliki arti pernyataan atau teori. Bisa disimpulkan bahwa arti dari hipotesis adalah pernyataan sementara. Ini merupakan praduga dari para peneliti terhadap masalah penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual diatas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah:

H_0 : Tidak ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA

H_1 : Ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian merupakan pedoman dalam melakukan proses penelitian diantaranya dalam menentukan instrumen pengambilan data, penentuan sampel, pengumpulan data serta analisa data. Pada penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan proses isolasi DNA dengan metode CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*).

Penelitian eksperimental laboratorium adalah penelitian yang digunakan untuk mengetahui hubungan sebab akibat dari variabel bebas dan variabel kontrol, dimana variabel bebas/kontrol dikendalikan supaya dapat menentukan pengaruh yang dapat ditimbulkan pada variabel terikat (Ratminingsih, 2010).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian merupakan wilayah yang ingin diteliti oleh peneliti. Seperti menurut Darmanah (2019) Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas subyek atau obyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi pada penelitian ini menggunakan tanaman daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) yang didapatkan dari dataran rendah daerah Mojomulyo, Kecamatan Puger, Kabupaten Jember.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel merupakan bagian dari populasi yang ingin diteliti oleh peneliti. Menurut Darmanah (2019) Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut, sehingga untuk pengambilan sampel harus menggunakan cara tertentu yang didasarkan oleh pertimbangan-pertimbangan yang ada. Sampel dalam penelitian ini adalah daun kelor muda (*Moringa oleifera* Lam.).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Menurut Darmanah (2019) Variabel bebas (*independent*) merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat (*dependent*) yang dapat berupa hubungan positif atau negatif. Bentuk hubungannya dapat berupa hubungan korelasi atau sebab akibat. Variabel bebas (*independent*) pada penelitian ini adalah pengaruh suhu penyimpanan sampel.

4.3.2 Variabel Terikat

Menurut Darmanah (2019) Variabel terikat (*dependent*) merupakan variabel yang dipengaruhi atau variabel sebagai akibat dari adanya variabel bebas (*independent*). Variabel terikat (*dependent*) pada penelitian ini adalah kualitas dan kuantitas DNA.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni tahun 2023

4.6 Definisi Operasional

Menurut Sugiyono (2015) definisi operasional merupakan sifat atau atribut atau nilai dari suatu kegiatan atau obyek yang memiliki variasi tertentu dan telah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari kemudian ditarik kesimpulannya. Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi operasional	Alat ukur	Cara ukur	Skala data	Hasil ukur
1	Suhu	parameter untuk mempengaruhi hasil isolasi DNA	Termometer	Setting pada suhu 10°C, 3°C, dan -20°C	Nominal	°C
2	Kualitas DNA	kemurnian hasil isolasi DNA yang dihasilkan	Spektrofotometri UV-Vis	Menggunakan blanko ddH ₂ O dengan panjang gelombang 260nm dan 280nm	Rasio	Nilai Absorbansi
3	Kuantitas DNA	Kadar atau konsentrasi DNA yang terkandung dalam zat yang diketahui memiliki DNA plasmid	Spektrofotometri UV-Vis	Menggunakan blanko ddH ₂ O dengan panjang gelombang 260nm dan 280nm	Rasio	Nilai Absorbansi

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi daun kelor dilakukan di Laboratorium Tanaman Universitas Ahmad Dahlan untuk memastikan bahwa sampel yang diuji benar merupakan spesies *Moringa oleifera* Lam.

4.7.2 Preparasi Sampel

Sampel daun berasal dari daun kelor yang muda, sampel disterilkan dengan alkohol 70% kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik dan diberi label. Sampel disimpan pada lemari pendingin atau kulkas pada suhu -20°C, 3°C, dan 10°C dalam 24 jam. Pada saat penelitian masing-masing sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram tanpa tulang. Lalu sampel digerus hingga halus. (Triani, 2020).

4.7.3 Isolasi DNA

1) Pembuatan *buffer* lisis CTAB (Liana, 2017)

(1) Pembuatan larutan CTAB 2% dalam 100 mL

Padatan CTAB ditimbang sebanyak 2 gram dalam *beaker glass*. Hasil padatan yang telah ditimbang dilarutkan dengan 50 mL ddH₂O. Larutan CTAB dituang dalam labu ukur 100 mL dan ditanda bataskan hingga volume 100 mL.

(2) Pembuatan larutan NaCl 2 M dalam 100 mL

Padatan NaCl ditimbang sebanyak 11,7 gram dalam *beaker glass*. Hasil padatan yang telah ditimbang, dilarutkan dengan 50 mL ddH₂O. Larutan ditambah dengan ddH₂O hingga volume larutan menjadi 100 mL.

(3) Pembuatan larutan EDTA 0,5 M pH 8 dalam 100 mL

Padatan NaEDTA ditimbang sebanyak 18.612 gram dalam beaker glass. Hasil padatan yang telah ditimbang, dilarutkan dengan 50 mL ddH₂O. Larutan ditambah dengan NaOH sampai pH 8 dan EDTA larut sempurna. Larutan ditambah dengan ddH₂O hingga volume larutan menjadi 100 mL.

(4) Pembuatan larutan Tris HCl IM pH 8 dalam 100 mL.

Padatan Tris HCl ditimbang sebanyak 12,114 gram dalam beaker glass. Hasil padatan yang telah ditimbang, dilarutkan dengan 50 mL ddH₂O. Larutan diaduk menggunakan stirrer di atas hotplate. Larutan ditambahkan HCl hingga pH 8. Larutan ditambah dengan ddH₂O hingga volume larutan menjadi 100 mL.

(5) Komposisi *buffer* CTAB dalam 100 mL

Mencampurkan 40 mL larutan CTAB 2%, 25 mL NaCl 5 M, 4 mL EDTA 0.5 M pH 8.0, 10 mL Tris HCl 1 M pH 8.0 dan 21 mL ddH₂O

2) Sterilisasi alat dan bahan

Larutan yang telah dibuat di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Larutan yang di sterilkan yaitu larutan CTAB, larutan NaCl, larutan EDTA, larutan Tris HCl, *Buffer* CTAB, ddH₂O. Micotube dan *Tip* mikropipet dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian *beaker glass* dibungkus dengan kertas coklat selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3) Isolasi DNA

DNA diekstrak dari sampel daun kelor muda yang disimpan pada lemari pendingin (kulkas) dengan suhu -20°C , 3°C , dan 10°C selama 24 jam. Masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 gram dan digerus dengan menggunakan mortar dan pestle, ditambah dengan 1 mL buffer CTAB ke dalam tabung microtube. Suspensi ini diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit di dalam inkubator. Selama inkubasi tabung microtube di bolak – balik secara kontinyu kemudian disentrifuse pada 13.500 rpm selama 3 menit.

Kemudian supernatan yang telah dihasilkan dipindah ke tabung *microtube* baru dan ditambah *Phenol:Chloroform:Isoamylalcohol* (25:24:1) dengan volume 1 mL. Tabung *microtube* divortex hingga homogen dan disentrifuse pada kecepatan 13.500 rpm selama 10 menit pada suhu 25°C . Diambil lapisan bagian atas (supernatan) kemudian dipindah ke tabung *microtube* baru dan ditambah 1 mL isopropanol kemudian diaduk secara perlahan (*gently*).

Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian tabung disentrifuse pada kecepatan 13.500 rpm selama 3 menit pada suhu 25°C dan supernatan dibuang. Pelet DNA yang terbentuk di dasar tabung *microtube* dicuci dengan etanol 70% lalu disentrifuse pada 13.500 rpm selama 3 menit pada suhu 25°C . Cairan pencuci etanol 70% dibuang dan pelet DNA yang dihasilkan dikeringanginkan dengan cara membolak-balik tube. Kemudian *pellet* DNA ditambah larutan Rehidrasi DNA dan disimpan pada suhu 2°C - 8°C hingga digunakan (Triani, 2020).

4.7.4 Analisis Kualitas DNA

Analisis kualitas DNA dengan menggunakan alat Spektrofotometri Uv-Vis. *Blanko* (kuvet diisi 1.000 μL aquabides ddh₂o steril) diukur pada panjang gelombang 260nm sampai A = 0,00. Kemudian ddh₂o steril dipipet sebanyak 5 μL dicampur dengan DNA hasil isolasi, absorbansi sampel di *setting* pada panjang gelombang 260nm dan panjang gelombang 280nm. Mengetahui kualitas DNA dapat dilakukan dengan caramenghitung rasio absorbansi dengan rumus :

$$\text{Rasio Kemurnian DNA} = \frac{\text{Abs pada } \lambda A_{260}}{\text{Abs pada } \lambda A_{280}}$$

Keterangan :

A₂₆₀ = Nilai absorbansi pada λ 260 nm

A₂₈₀ = Nilai absorbansi pada λ 280 nm

Abs = Absorbansi

4.7.5 Analisis Kuantitas DNA

Analisis kuantitas DNA dengan menggunakan alat Spektrofotometri Uv-Vis. *Blanko* (kuvet diisi 1.000 μL aquabides ddh₂o steril) diukur pada panjang gelombang 260nm sampai A = 0,00. Kemudian ddh₂o steril dipipet sebanyak 5 μL dicampur dengan DNA hasil isolasi, absorbansi sampel di *setting* pada panjang gelombang 260 nm dan pada panjang gelombang 280nm. Mengetahui kuantitas DNA diamati dengan cara menghitung nilai kadar/konsentrasi menggunakan rumus :

$$\text{Konsentrasi (C)} = [\text{Absorbansi } \lambda \text{ pada } A_{260} \times \text{Faktor C}]$$

Keterangan :

Faktor C = 50 $\mu\text{g/mL}$ (konversi unit dari DNA untai ganda)

4.8 Analisa Data

Data hasil penelitian yang dianalisis yaitu data hasil kualitas dan kuantitas dengan suhu -20°C , 3°C , 10°C menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini menggunakan analisis statistik One Way ANOVA yang digunakan untuk melihat adanya pengaruh terhadap suhu penyimpanan sampel. Rangkaian dari uji One Way ANOVA yaitu diawali dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene*, dengan persyaratan harus memiliki sebaran data yang normal dan varian data yang homogen yakni dengan nilai $p > 0,05$. Setelah persyaratan uji normalitas dan homogenitas terpenuhi, maka dapat dilanjutkan dengan One Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% dengan syarat nilai $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sebaliknya, jika $p > 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima dan dilanjutkan dengan uji post hoc dengan *Least Significantly Difference* (LSD) untuk mengetahui suhu mana yang berpengaruh signifikan.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan. Berdasarkan nomor sertifikat 241/Lab.Bio/B/V/2023 menyatakan hasil dari determinasi tanaman menunjukkan bahwa daun kelor yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan adalah spesies *Moringa oleifera* Lam. yang tergolong dalam suku Moringaceae. Hasil determinasi daun kelor dapat dilihat pada Lampiran 1.

5.2 Kualitas DNA

Kualitas DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA (A260/A280). Nilai rata-rata kualitas DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini pada suhu -20°C yaitu $1,804 \pm 1,228$, pada suhu 3°C yaitu $1,825 \pm 1,191$ dan pada suhu 10°C yaitu $2,041 \pm 1,178$. Dari hasil ketiga suhu tersebut memiliki nilai kualitas yang mencukupi/memenuhi syarat. Berikut adalah tabel hasil kualitas DNA.

Tabel 5.1 Hasil kualitas DNA

Replikasi	Suhu	A260 nm	A280 nm	Kualitas	Rata-rata $\pm$ SD
1	-20°C	0,333	0,184	1,809	1,804 $\pm$ 1,228
2	-20°C	0,334	0,185	1,805	
3	-20°C	0,342	0,191	1,790	
4	-20°C	0,314	0,173	1,815	
5	-20°C	0,319	0,177	1,802	
1	3°C	0,220	0,114	1,929	1,825 $\pm$ 1,191
2	3°C	0,212	0,109	2,009	
3	3°C	0,219	0,114	1,921	
4	3°C	0,223	0,117	1,905	
5	3°C	0,203	0,102	1,990	

1	10°C	0,138	0,057	2,421	
2	10°C	0,205	0,101	2,029	
3	10°C	0,208	0,110	1,890	2,041±1,178
4	10°C	0,201	0,103	1,951	
5	10°C	0,207	0,108	1,916	

Berdasarkan tabel 5.2 Hasil uji normalitas pada kualitas DNA tersebut menunjukkan bahwa pada suhu -20°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,851 yaitu $P>0,05$. Pada suhu 3°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,298 yaitu $P>0,05$. Pada suhu 10°C berdistribusi tidak normal dengan sig. (p)0,034 yaitu $P<0,05$.

Tabel 5.2 Uji Normalitas kualitas DNA

Penyimpanan Suhu	Normaliitas		
	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df.	Sig.
-20°C	0,851	5	0,851
3°C	0,298	5	0,298
10°C	0,034	5	0,034

Berdasarkan tabel 5.3 Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic* didapatkan nilai yang signifikan 0,063 yaitu $P>0,05$ yang artinya berdistribusi homogen.

Tabel 5.3 Uji Homogenitas kualitas DNA

Based on trimmed Mean	Levene Statistic	Df.	df.	Sig.
	3,515	2	12	0,63

Berdasarkan tabel 5.4 hasil data menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikan 0,039 yaitu $P<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan.

Tabel 5.4 Uji ANOVA kualitas DNA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,143	2	0,072	4,302	0,039
Within Groups	0,200	12	0,017		
Total	0,343	14			

Berdasarkan analisis data didapatkan hasil LSD yaitu pada suhu -20°C terhadap suhu 3°C adalah 0,098 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu -20°C terhadap suhu 10°C adalah 0,013 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 3°C terhadap suhu -20°C adalah 0,098 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu 3°C terhadap suhu 10°C adalah 0,289 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu -20°C adalah 0,013 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu 3°C adalah 0,289 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Berikut adalah tabel hasil LSD.

Tabel 5.5 Hasil Uji LSD kualitas DNA

Perbedaan suhu		Std. Error	Sig.
Suhu -20°C	Suhu 3°C	0,081609	0,098
	Suhu 10°C	0,081609	0,013
Suhu 3°C	Suhu -20	0,081609	0,098
	Suhu 10°C	0,081609	0,289
Suhu 10°C	Suhu -20°C	0,081609	0,013
	Suhu 3°C	0,081609	0,289

5.3 Kuantitas DNA

Pada penelitian ini nilai rata-rata kuantitas DNA yang diperoleh pada suhu -20°C memiliki hasil $243,806 \pm 23,391 \text{ ng}/\mu\text{L}$, pada suhu 3°C memiliki hasil $154,011 \pm 5,733 \text{ ng}/\mu\text{L}$, dan pada suhu 10°C memiliki hasil $137,137 \pm 21,589 \text{ ng}/\mu\text{L}$. Dari hasil ketiga suhu tersebut memiliki nilai kuantitas yang tergolong tinggi. Berikut adalah tabel hasil kuantitas DNA.

Tabel 5.6 hasil kuantitas DNA

Replikasi	Suhu	A260 nm	Kuantitas (ng/ μL)	Rata-rata $\pm$ SD (ng/ μL)
1	-20°C	0,333	283,095	$243,806 \pm 23,391$
2	-20°C	0,334	238,81	
3	-20°C	0,342	244,53	
4	-20°C	0,314	224,51	
5	-20°C	0,319	228,085	
1	3°C	0,220	157,3	$154,011 \pm 5,733$
2	3°C	0,212	151,58	
3	3°C	0,219	156,585	
4	3°C	0,223	159,445	
5	3°C	0,203	145,145	
1	10°C	0,138	98,67	$137,137 \pm 21,589$
2	10°C	0,205	146,575	
3	10°C	0,208	148,72	
4	10°C	0,201	143,715	
5	10°C	0,207	148,005	

Berdasarkan tabel 5.7 Hasil uji normalitas pada kualitas DNA tersebut menunjukkan bahwa pada suhu -20°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,168 yaitu $P > 0,05$. Pada suhu 3°C berdistribusi tidak normal dengan sig. (p)0,003 yaitu $P < 0,05$. Pada suhu 10°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,823 yaitu $P > 0,05$.

Tabel 5.7 Uji Normalitaskuantitas DNA

Normaliitas			
Penyimpanan Suhu	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df.	Sig.
-20°C	0,841	5	0,168
3°C	0,007	5	0,003
10°C	0,200	5	0,823

Berdasarkan tabel 5.8 Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic* didapatkan nilai yang signifikan 0,164 yaitu $P>0,05$ yang artinya berdistribusi homogen.

Tabel 5.8 Uji Homogenitaskuantitas DNA

Based on trimmed Mean	Levene Statistic	Df.	df.	Sig.
	3,515	2	12	0,164

Berdasarkan tabel 5.9 hasil data menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikan 0,000 yaitu $P<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan.

Tabel 5.9 Uji ANOVAkuantitas DNA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32172,448	2	16086,224	39,484	0,000
Within Groups	4888,886	12	407,407		
Total	37061,333	14			

Berdasarkan analisis data didapatkan hasil LSD yaitu pada suhu -20°C terhadap suhu 3°C adalah 0,000 sehingga $p<0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu -20°C terhadap suhu 10°C adalah 0,000 sehingga $p<0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 3°C terhadap suhu -20°C adalah 0,000 sehingga $p>0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu

3°C terhadap suhu 10°C adalah 0,895 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu -20°C adalah 0,013 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu 10°C terhadap suhu 3°C adalah 0,895 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan.

Tabel 5.10 hasil LSD kuantitas DNA

Perbedaan suhu		Std. Error	Sig.
Suhu -20°C	Suhu 3°C	12,765691	0,000
	Suhu 10°C	12,765691	0,000
Suhu 3°C	Suhu -20	12,765691	0,000
	Suhu 10°C	12,765691	0,895
Suhu 10°C	Suhu -20°C	12,765691	0,000
	Suhu 3°C	12,765691	0,895

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Kualitas DNA

Sholihah (2014) menyatakan bahwa pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dapat digunakan untuk mengetahui kualitas DNA hasil isolasi. Tingkat kemurnian dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai 260 nm dan 280 nm pada sampel DNA. Panjang gelombang 260 nm merupakan nilai maksimal DNA dapat menyerap cahaya, nilai tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan konsentrasi DNA, sedangkan panjang gelombang 280 merupakan nilai kontaminan protein atau fenol yang dapat menyerap cahaya.

Berdasarkan hasil penelitian nilai rata-rata kualitas DNA pada suhu -20°C yaitu $1,804 \pm 1,228$, pada suhu 3°C yaitu $1,825 \pm 1,191$ dan pada suhu 10°C yaitu $2,041 \pm 1,178$. Dari hasil ketiga suhu tersebut memiliki nilai kualitas yang mencukupi/memenuhi syarat.

Hasil isolasi DNA dikatakan murni jika nilai rasio A260/A280 adalah antara 1,8-2,0. Jika nilai rasio A260/A280 kurang dari 1,8, maka hal ini menunjukkan bahwa kualitas DNA yang dihasilkan masih mengandung kontaminan seperti fenol dan pelarut yang digunakan terlalu banyak. Sedangkan jika nilai rasio A260/A280 lebih dari 2,0 maka kualitas DNA yang dihasilkan masih mengandung kontaminan seperti protein dan senyawa lainnya (Nugroho, 2015).

Kualitas DNA yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh faktor teknis selama pengerjaan isolasi DNA, termasuk pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah inkubasi ke tabung eppendorf yang baru dan pengeringan isolat. Pemindahan harus dilakukan secara hati-hati agar jaringan yang telah hancur dan berada dibagian bawah tabung tidak ikut terambil, sedangkan pengeringan DNA yang berupa pelet pada tahap akhir isolasi harus benar-benar kering dari larutan sebelumnya yang dipakai untuk purifikasi. Larutan purifikasi seperti alkohol atau etanol dapat menurunkan nilai kemurnian DNA pada saat pengukuran pada spektrofotometer Uv-Vis jika pengeringan kurang sempurna. Selain faktor teknis, faktor alat dan bahan yang digunakan juga akan sangat berpengaruh pada kualitas DNA yang dihasilkan. Alat-alat seperti tabung eppendorf dan tips harus steril sebelum digunakan untuk mengisolasi DNA (Nugroho, 2015).

Analisis kualitas DNA dilakukan dengan program statistik perangkat lunak IBM SPSS statistik 22. Tujuan analisis statistik adalah untuk mengetahui adanya perbedaan penyimpanan suhu antara 3 kelompok. Persyaratan Uji Post Hoc Test yaitu $(sig) > 0,05$ maka data dikatakan tidak memiliki perbedaan, jika nilai $(sig) < 0,05$ maka data dikatakan memiliki perbedaan signifikan (Palupi & Prasetya, 2022).

Pada Uji normalitas digunakan untuk menguji data yang berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas adalah salah satu syarat sebelum dilakukan pengujian hipotesis. Uji normalitas dibaca dengan *Shapiro wilk* menggunakan SPSS statistik. Jika nilai signifikan yang diperoleh $< 0,05$, maka data dikatakan

berdistribusi normal. Dan jika angka signifikan yang diperoleh $p < 0,05$, maka data tidak berdistribusi normal (Jayantika, 2018)

Hasil uji normalitas pada kualitas DNA pada penelitian ini menunjukkan bahwa suhu -20°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,851 yaitu $P > 0,05$. Pada suhu 3°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,298 yaitu $P > 0,05$. Pada suhu 10°C berdistribusi tidak normal dengan sig. (p)0,034 yaitu $P < 0,05$.

Setelah data memenuhi distribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji persamaan variasi antar kelompok sampel. Uji homogenitas menggunakan uji F, dan uji homogenitas data hasil perhitungan menggunakan SPSS dengan sig 0,05. Jika angka signifikan $> 0,05$ maka data dikatakan homogen. Sedangkan jika angka signifikan $< 0,05$ data bisa dikatakan tidak homogen (Mukrimaa *et al.*, 2016).

Hasil uji homogenitas pada penelitian ini menggunakan *Levene Statistic* didapatkan nilai yang signifikan 0,000 yaitu $P > 0,05$ yang artinya berdistribusi homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas selanjutnya dilakukan *Uji One Way ANOVA* yang bertujuan untuk membandingkan kelompok kategori untuk menentukan apakah ada perbedaan diantara kelompok tersebut. Dasar keputusan dalam anova. Jika nilai (sig) $> 0,05$ maka data dianggap tidak berbeda, jika nilai signifikan (sig) $< 0,05$ maka data dianggap berbeda (Mukrimaa *et al.*, 2016).

Hasil data menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikan 0,039 yaitu $P < 0,05$ yang artinya terdapat pengaruh signifikan. Dan didapatkan hasil LSD yaitu pada suhu -20°C terhadap suhu 3°C adalah 0,098 sehingga

$p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu -20°C terhadap suhu 10°C adalah 0,013 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 3°C terhadap suhu -20°C adalah 0,098 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu 3°C terhadap suhu 10°C adalah 0,289 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu -20°C adalah 0,013 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu 3°C adalah 0,289 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan.

Faktor yang mempengaruhi nilai kualitas dan kuantitas DNA pada proses ekstraksi DNA antara lain pemilihan jenis tanaman yang akan digunakan, umur tanaman, penanganan dan penyimpanan jaringan tersebut sebelum diisolasi DNA-nya dan perlakuan homogenisasi jaringan terutama pada jaringan tumbuhan yang dinding selnya banyak mengandung senyawa polisakarida (Retnaningati, 2020).

Sebelum dilakukan isolasi DNA tanaman umumnya menyarankan penggunaan nitrogen cair selama penggerusan sampel jaringan tanaman. Nitrogen cair memiliki fungsi membekukan jaringan sehingga lebih mudah dalam penggerusan. Penggunaan nitrogen cair memiliki kelemahan antara lain bila jaringan tanaman telah terpapar nitrogen cair maka jaringan tersebut tidak boleh mencair (*thawing*) sebelum diekstraksi (Retnaningati, 2020).

Nitrogen cair ini jarang digunakan di negara berkembang karena harganya mahal serta membutuhkan tempat pendingin khusus untuk penyimpanan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, penggunaan nitrogen cair tidak berpengaruh signifikan terhadap hasil isolasi DNA, sehingga penggunaan nitrogen cair tidak mutlak dilakukan. Sebagai pengganti nitrogen cair, pada penelitian ini sampel disimpan pada lemari pendingin/*freezer* dengan variasi suhu yang telah ditentukan yaitu -20°C , 3°C , dan 10°C .

6.2 Kuantitas DNA

Analisis kuantitas DNA dikerjakan dengan menggunakan alat Spektrofotometri Uv-vis. Pada penelitian ini nilai rata-rata kuantitas DNA yang diperoleh pada suhu -20°C memiliki hasil $243,806 \pm 23,391 \text{ ng}/\mu\text{L}$, pada suhu 3°C memiliki hasil $154,011 \pm 5,733 \text{ ng}/\mu\text{L}$, dan pada suhu 10°C memiliki hasil $137,137 \pm 21,589 \text{ ng}/\mu\text{L}$. Dari hasil ketiga suhu tersebut memiliki nilai kuantitas yang tergolong tinggi.

Menurut Nugroho (2015) Kuantitas DNA yang dihasilkan selama proses isolasi memiliki nilai yang tinggi atau rendah karena beberapa faktor, yaitu faktor teknis selama pengerjaan isolasi DNA, termasuk pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah inkubasi ke tabung eppendorf yang baru dan pengeringan isolat. Pemindahan harus dilakukan secara hati-hati agar jaringan yang telah hancur dan berada dibagian bawah tabung tidak ikut terambil, sedangkan pengeringan DNA yang berupa pelet pada tahap akhir isolasi harus benar-benar kering dari larutan sebelumnya yang dipakai untuk purifikasi. Larutan purifikasi seperti alkohol atau etanol dapat menurunkan nilai konsentrasi DNA pada saat pengukuran pada spektrofotometer Uv-Vis jika

pengeringan kurang sempurna. Selain faktor teknis, faktor alat dan bahan yang digunakan juga akan sangat berpengaruh pada kualitas DNA yang dihasilkan. Alat-alat seperti tabung eppendorf dan tips harus steril sebelum digunakan untuk mengisolasi DNA.

Menurut Retnaningati (2020) Jaringan daun yang digunakan untuk isolasi DNA juga berpengaruh terhadap jumlah DNA yang diperoleh. Pada umumnya daun muda sering digunakan dalam isolasi DNA karena mudah dalam mendapatkan DNA dengan kuantitas/konsentrasi yang tinggi. Daun muda mempunyai aktifitas pembelahan yang tinggi selama proses lisis dan menggandakan jumlah DNA sehingga konsentrasi DNA pada daun muda relatif tinggi.

Kuantitas/konsentrasi DNA yang dihasilkan selama proses isolasi dapat memiliki nilai yang tinggi atau rendah karena beberapa faktor yaitu suhu inkubasi dan lama inkubasi. Kombinasi penyesuaian suhu dan waktu inkubasi yang tepat dapat menghasilkan konsentrasi DNA yang diharapkan (Triani, 2020)

Analisis pengukuran kuantitas DNA dilakukan dengan program statistik perangkat lunak IBM SPSS statistik 22. Tujuan analisis statistik adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan penyimpanan suhu antara tiga kelompok. Sebelum melakukan uji hipotesis, maka dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas (Palupi & Prasetya, 2022).

Pada Uji normalitas digunakan untuk menguji data yang berdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas pada kualitas DNA pada penelitian ini menunjukkan bahwa suhu -20°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,168 yaitu

$P > 0,05$. Pada suhu 3°C berdistribusi tidak normal dengan sig. (p)0,003 yaitu $P < 0,05$. Pada suhu 10°C berdistribusi normal dengan sig. (p)0,823 yaitu $P > 0,05$.

Setelah data memenuhi distribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji persamaan variasi antar kelompok sampel. Hasil uji homogenitas pada penelitian ini menggunakan *Levene Statistic* didapatkan nilai yang signifikan 0,000 yaitu $P > 0,05$ yang artinya berdistribusi homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas selanjutnya dilakukan *Uji One Way ANOVA* yang bertujuan untuk membandingkan kelompok kategori untuk menentukan apakah ada perbedaan diantara kelompok tersebut. Hasil data menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikan 0,000 yaitu $P < 0,05$ yang artinya terdapat pengaruh signifikan. Dan didapatkan hasil LSD yaitu pada suhu -20°C terhadap suhu 3°C adalah 0,000 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu -20°C terhadap suhu 10°C adalah 0,000 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 3°C terhadap suhu -20°C adalah 0,000 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu 3°C terhadap suhu 10°C adalah 0,895 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD pada suhu 10°C terhadap suhu -20°C adalah 0,013 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan. Hasil LSD suhu 10°C terhadap suhu 3°C adalah 0,895 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Suhu penyimpanan sampel menunjukkan pengaruh yang signifikan pada kualitas DNA.
2. Suhu penyimpanan sampel menunjukkan pengaruh yang signifikan pada kuantitas DNA.

7.2 Saran

Adapun beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu :

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut pada analisis kualitas DNA menggunakan elektroforesis.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi DNA menggunakan sampel dari tanaman lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi DNA menggunakan metode lain seperti metode kit, metode SDS (*Sodium Dodecylsulfate*) dan metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, H. 2020. Tinjauan Hukum Islam Terhadap Tes DNA Sebagai Alat Bukti Tindak Pidana Pembunuhan. UIN Walisongo Semarang.
- Apriliana B, Sonya T N. 2020. Analisis Keragaman Genetik Pada Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera*) Berdasarkan Penanda Molekuler Random Amplified Polimorphic DNA (Rapid). *Jurnal Biotropikal Sains* Vol. 17, No. 1 Februari 2020
- Ariyanti, Y., & Sianturi, S. 2019. Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit for animal tissue. *Journal of Science and Applicative Technology*, 3(1), 40-45.
- Ballo, Apriliana., & Nge, S.T. 2020. Analisis Keragaman Genetik Pada Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera*) Berdasarkan Penanda Molekuler Random Amplified Polimorphic DNA (Rapid). *Jurnal Biotropikal Sains*, 17(1), 35-44.
- Bohme K, Calo-Mata P, Barros-Velazques J, Ortea I. 2019. Review of recent DNA-based methods for main food authentication topics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 67: 3854–3864.
- Buwono, Ibnu Dwi., Iskandar., Agung, M.Untung Kurnia., Subhan, Ujang. 2018. *Buku Ajar Aplikasi Teknologi DNA Rekombinan untuk Perakitan Konstruksi Vector Ekspresi Ikan Lele Transgenic*. Yogyakarta: Deepublish.
- Darmanah. 2019. Metodologi Penelitian. CV. *Hira Tech*.
- Fahlevi, Bakti, Fitriany. 2017. Karakterisasi Molekuler *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera: Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Metode Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). *Jurnal Agroekoteknologi FP USU E-ISSN* No. 2337- 6597. Vol.5.No.4
- Fitriya, Riya Tyas., Ibrahim, Muslimin., dan Lisdiana, Lisa. 2015. The Effectiveness of Modified DNA Isolation Method of Kit and CTAB/NaCl ON *Staphylococcus aureus* and *Shigelladysentriae*. *Lentera Bio*. 4(1): 87-88.
- Heldt, Hans-Walter, Fiona. 2005. *Plant biochemistry* (Edisi ke-3rd). Pers Akademik. hal. 517 . ISBN 9780120883912.
- Hapsari, R. 2012. Uji Kuantitatif Dan Kualitatif Dna Pule Pandak (*Rauvolfia Serpentina L.*). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Harahap, A. S. 2017. Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *Journal of Animal Science and Argonomy Panca Budi*, Vol. 2 (1-6)
- Harahap M. R. 2018. Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, Vol.2 (1)
- Hidayah M. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerbatan Genetik Nanas menggunakan RAPD (*Random Amplified Polimorphic DA*), Volume 15 (1)
- Hutami R, Idzni N, Ranasasmita R, Suprayatmi M. 2017. *Jurnal Pertanian*. 8(2):106-112.
- Jayantika. 2018. Panduan Penelitian Eksperimen Berserta Analisis Statistik dengan SPSS. Yogyakarta: Deepublish.
- Krisnadi. 2015. *Kelor Super Nutrisi*. Blora: Pusat Informasi dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia.
- Liana H. A. 2017. Isolasi Dna *Chlorella Sp.* dengan Metode CTAB dan Identifikasi Sikuen 18s rDNA. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Luluk S, 2021. Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Sumber Pangan Fungsional Dan Antioksidan, *Jurnal Agrisia*-Vol.13 No.2
- Magdeldin, S. 2012. *Gelmucleic acid Bros Scientigic Publishers Ltd*. Oxford.
- Mardiana, L. 2013. Daun Ajaib Tumpas Penyakit. Jakarta: Penebar Swadaya. Halaman 47-71.
- M. G. Mgendi, M. K. Manoko, and A. M. Nyomora. 2010. “*Genetic diversity between cultivated and non-cultivated Moringa oleifera Lam. provenances assessed by RAPD markers*,” *Journal of Cell and Molecular Biology*, vol. 8, no. 2, pp. 95–102.
- Mulyani, Y., Purwanto, A., & Nurruhwati, I. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi Dna Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (Khv) Pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L.*). *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(1), 244185.
- Murtiyaningsih, Hidayah. 2017. DNA Genom Isolation And Identification Of Genetic Relationship *Pineapple Usingrapd* (Random Amplified Polimorphic DNA. *Agritrop*. 15(1): 85.

- Mustikaningrum M. 2015. Aplikasi Metode Spektrofotometri Visibel Genesys -20 Untuk Mengukur Kadar Curcuminoid pada temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*). Semarang. Universitas Diponegoro.
- Mukrimaa, S. S., Nurdyansyah, Fahyuni, E. F., YULIA CITRA, A., Schulz, N. D., د, غسان, Taniredja, T., Faridli, E. M., & Harmianto, S. 2016. No Title. In Jurnal Penelitian Pendidikan Guru Sekolah Dasar (Vol. 6, Issue August).
- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Jurnal Pillar of Physics*.
- Noviyanti, Fajrin. 2020. Penetapan Kadar Ketoprofen dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Bandung. Media Sains Indonesia.
- Nugroho K, Terryana RT, Rijzaani H, Lestari P. 2016. DNA ekstraktion method of *jatropha spp* without liquid nitrogen. *Jurnal Littri* 22(4): 159-166.
- Nugroho, Fitra Arya Dwi. 2015. *Identifikasi pola haplotipe DNA mitokondria udang jari (Metapenaeus elegans) Segara Anakan Kabupaten Cilacap Jawa Tengah menggunakan enzim restriksi HindIII*. Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Palupi, R., & Prasetya, A. E. 2022. Pengaruh Implementasi Content Management Kecepatan Kinerja Menggunakan One Way Anova System Terhadap. *Jurnal Ilmiah Informatika*, 10(1), 74–79.
- Perwitasari, D. A., Faridah, I. N., Dania, H., Irham, L. M., Salsabila, F. V., & Maliza, R. 2020. *Genotype of Potassium Inwardly Rectifying Channel, Subfamily J, Member 11 (KCNJ 11) Gene and Glycaemia Control in diabetic Patient. System Reviews in Pharmacy*, 11 (9), 627-631
- Retnaningati D. 2020. *Optimization of DNA Extraction Method on Melon (Cucumis melo L.) Based on Temperature, Incubation Time and Condition of Leaf*. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Vol. 5 (2)
- Saravanaperumal, S.A. and A. La Terza. 2012. *Polyphenolic free DNA Isolation and Optimization of PCR-RAPD for Fennel (Foeniculum vulgare Mill.) from Mature and Young Leaves*. *African Journal of Biotechnology*. 11(35).
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2018. Dasar-dasar Spektroskopi. Yogyakarta: Gadjah Mada University .
- Sembiring Timbangan, Dayana Indri, Rianna Martha. Alat Penguji Material. 2019. Bogor: Guepedia.

- Shah. M. A., Bosco, S. J. D., & Mir, S. A. 2015. *Effect of Moringa oleifera leaf extract on the physicochemical packaged raw beef*. *Food Packaging and Shelf Life*, 3, 31–38.
- Sholihah, Siti Mar'atus. 2014. Hubungan kekerabatan beberapa kultivar pisang (*Musa sp.*) untuk sifat ketahanan terhadap penyakit berdasarkan Resistance Gene Analog (RGA). Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sinaga, E. (2010). Biologi Molekuler Ekspresi Gen. Fakultas Biologi Universitas Nasional
- Sugiyono. 2015. Metode penelitian kuantitatif kualitatif dan R&D. Alfabeta
- Suhartati, Tati. 2017. Dasar-dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Cv. *Anugrah Utama Raharja*. Bandar Lampung
- Syafaruddin dan T.J. Santoso. 2011. Optimasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA yang Efisien dan Efektif pada Kemiri Sunan {*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw}. *Jurnal Littri*. Vol. 17. No. 1. PP. 11-17.
- Triani N. 2020. Isolasi Dna Tanaman Jeruk Dengan Menggunakan Metode Ctab (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). F.SAINTEK Unira Malang. Vol. 3. No. 2
- Vanajakshi, V., Vijayendra, S.V.N., Varadaraj, M.C., Venkateswaran, G., Renu Agrawal. 2015. *Optimization of a probiotic beverage based on Moringa leaves and beetroot*. *LWT - Food Science and Technology*, 63: 1268-1273
- Windiastrika, G. 2011. Metode uji kualitatif DNA dengan elektroforesis gel agarosa, 1-8
- Zulfarina dan Imam Mahadi. 2019. *Buku Ajar Bioteknologi*. UR Press Pekanbaru.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



LABORATORIUM PEMBELAJARAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jl. Ringroad Selatan, Tamanan, Banguntapan, Bantul

SURAT KETERANGAN Nomor : 241/Lab.Bio/B/V/2023

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Laboratorium Pembelajaran Biologi Universitas Ahmad Dahlan menerangkan bahwa :

Nama : Firda Makkiatul Ikrima
NIM : 19040049
Prodi, PT : Fakultas Kesehatan, Universitas dr. Soebandi

Telah melakukan determinasi daun tanaman dengan bimbingan Hery Setiyawan, M.Si di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 9 Mei 2023

Tanaman tersebut adalah :
Moringa oleifera Lam.

Demikian Surat Keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 11 Mei 2023

Kepala Lab. Pembelajaran Biologi



Ichsan Luqman Nurra Putra, S. Si., M.Sc.

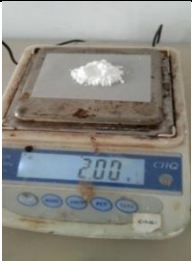
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b –
26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 21a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b –
42b – 44b – 45b – 46a – 47a Moringaceae

1. Moringa

1 *Moringa oleifera* Lam.

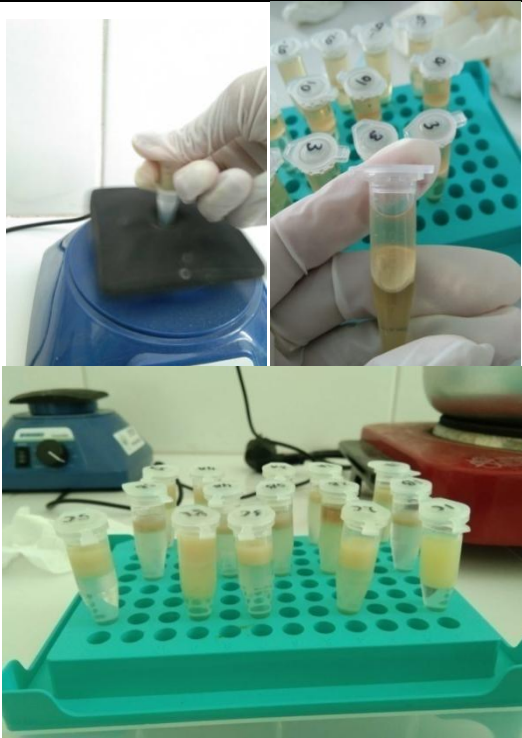
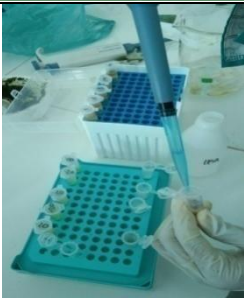
Flora of Java (Backer, 1965)

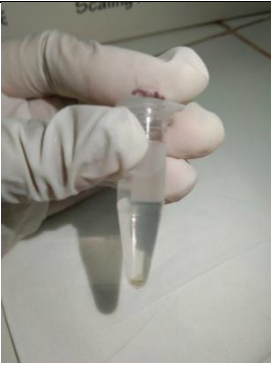
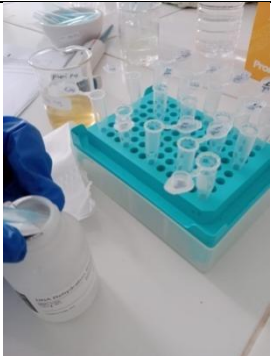
Lampiran 2. Pembuatan buffer CTAB

		Penimbangan CTAB
		Penimbangan NaCl
		Penimbangan NaEDTA
		Penimbangan Tris HCl
	Larutan Buffer CTAB	

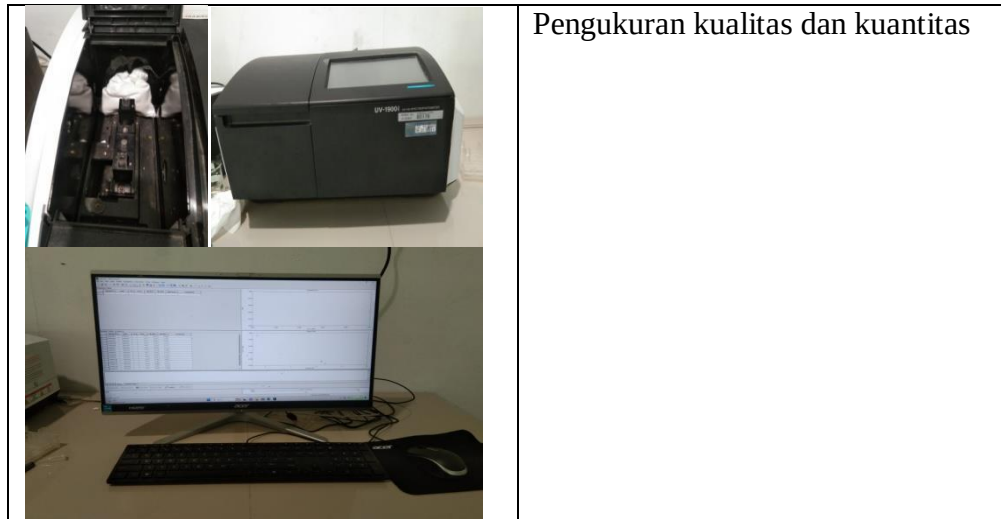
Lampiran 3. Isolasi DNA

	Penimbangan sampel daun kelor
	Penyimpanan sampel
	Penggerusan sampel dan penambahan buffer CTAB
	Inkubasi 65°C
	Sentrifuge

	Pengambilan supernatan dan penambahan PCI
	Proses vortex
	Penambahan isopropanol
	Inkubasi 37°C

	Pellet DNA
	Penyucian dengan etanol 70%
	Penambahan DNA Rehydration

Lampiran 4. Pengukuran Kualitas dan Kuantitas



Pengukuran kualitas dan kuantitas

b. Perhitungan Kualitas/Kemurnian DNA

$$\text{Rasio Kemurnian DNA} = \frac{\text{Abs pada } \lambda A_{260}}{\text{Abs pada } \lambda A_{280}}$$

Replikasi	Suhu	A260 nm	A280 nm	Kualitas
1	-20°C	0.333	0.184	1.809
2	-20°C	0.334	0.185	1.805
3	-20°C	0.342	0.191	1.790
4	-20°C	0.314	0.173	1.815
5	-20°C	0.319	0.177	1.802
1	3°C	0.220	0.114	1.929
2	3°C	0.212	0.109	2.009
3	3°C	0.219	0.114	1.921
4	3°C	0.223	0.117	1.905
5	3°C	0.203	0.102	1.990
1	10°C	0.138	0.057	2.421
2	10°C	0.205	0.101	2.029
3	10°C	0.208	0.110	1.890
4	10°C	0.201	0.103	1.951
5	10°C	0.207	0.108	1.916

c. Perhitungan Kuantitas/Konsentrasi DNA

Faktor Pengenceran :

$$\frac{\text{Total}}{\text{Sampel yang diambil}} = \frac{1000 \mu\text{g}}{70 \mu\text{g}} = 14.3 \mu\text{g}$$

Konsentrasi = Abs_{260nm} x Faktor Pengenceran x 50 μg

Replikasi 1 suhu -20°C = $0.333 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 283.095$

Replikasi 2 suhu -20°C = $0.334 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 238.81$

Replikasi 3 suhu -20°C = $0.319 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 244.53$

Replikasi 4 suhu -20°C = $0.342 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 224.51$

Replikasi 5 suhu -20°C = $0.314 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 228.085$

Replikasi 1 suhu 3°C = $0.220 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 157.3$

Replikasi 2 suhu 3°C = $0.212 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 151.58$

Replikasi 3 suhu 3°C = $0.219 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 156.585$

Replikasi 4 suhu 3°C = $0.223 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 159.445$

Replikasi 5 suhu 3°C = $0.203 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 145.145$

Replikasi 1 suhu 10°C = $0.138 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 98.67$

Replikasi 2 suhu 10°C = $0.205 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 146.575$

Replikasi 3 suhu 10°C = $0.208 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 148.72$

Replikasi 4 suhu 10°C = $0.201 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 143.715$

Replikasi 5 suhu 10°C = $0.207 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 148.0055$

Lampiran 5. Analisis Data

a. Kualitas DNA

1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	perbedaan_suhu	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kualitas_DNA	Suhu -20°C	.207	5	.200*	.966	5	.851
	Suhu 3°C	.283	5	.200*	.877	5	.298
	Suhu 10°C	.323	5	.097	.757	5	.034

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
kualitas_DNA	Based on Mean	4.549	2	12	.034
	Based on Median	1.602	2	12	.242
	Based on Median and with adjusted df	1.602	2	4.264	.303
	Based on trimmed mean	3.515	2	12	.063

3. Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA					
kualitas_DNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.143	2	.072	4.302	.039
Within Groups	.200	12	.017		
Total	.343	14			

4. Hasil Uji LSD (Least Significant Difference)

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: kualitas_DNA						
LSD						
(I) perbedaan_suhu	(J) perbedaan_suhu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Suhu -20°C	Suhu 3°C	-.146600	.081609	.098	-.32441	.03121
	Suhu 10°C	-.237200*	.081609	.013	-.41501	-.05939
Suhu 3°C	Suhu -20°C	.146600	.081609	.098	-.03121	.32441
	Suhu 10°C	-.090600	.081609	.289	-.26841	.08721
Suhu 10°C	Suhu -20°C	.237200*	.081609	.013	.05939	.41501
	Suhu 3°C	.090600	.081609	.289	-.08721	.26841

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

b. Kuantitas DNA

1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality							
	perbedaan_suhu	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kuantitas_DNA	Suhu -20°C	.288	5	.200 [*]	.841	5	.168
	Suhu 3°C	.404	5	.007	.650	5	.003
	Suhu 10°C	.179	5	.200 [*]	.962	5	.823

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
kuantitas_DNA	Based on Mean	2.612	2	12	.114
	Based on Median	.868	2	12	.444
	Based on Median and with adjusted df	.868	2	7.115	.460
	Based on trimmed mean	2.113	2	12	.164

3. Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA

kuantitas_DNA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32172,448	2	16086,224	39,484	,000
Within Groups	4888,886	12	407,407		
Total	37061,333	14			

4. Hasil Uji LSD (*Least Significant Difference*)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kuantitas_DNA
LSD

(I) perbedaan_suhu	(J) perbedaan_suhu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Suhu -20°C	Suhu 3°C	99.090000 [*]	12.765691	.000	71.27595	126.90405
	Suhu 10°C	97.374000 [*]	12.765691	.000	69.55995	125.18805
Suhu 3°C	Suhu -20°C	-99.090000 [*]	12.765691	.000	-126.90405	-71.27595
	Suhu 10°C	-1.716000	12.765691	.895	-29.53005	26.09805
Suhu 10°C	Suhu -20°C	-97.374000 [*]	12.765691	.000	-125.18805	-69.55995
	Suhu 3°C	1.716000	12.765691	.895	-26.09805	29.53005

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.