

**PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
DAN KEMURNIAN DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera
Lam.*) MENGGUNAKAN WIZARD® GENOMIC DNA
PURIFICATION KIT**

SKRIPSI



**Oleh:
Putri Puji Lestari
NIM 19040103**

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

**PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
DAN KEMURNIAN DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera
Lam.*) MENGGUNAKAN WIZARD® GENOMIC DNA
PURIFICATION KIT**

SKRIPSI

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



Oleh:
Putri Puji Lestari
NIM 19040103

**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 Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi

Jember, 25 Agustus 2023

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Anggota



Aliyah Purwanti, M.Si.
NIDN. 0709129002

HALAMAN PENGESAHAN

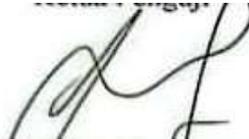
Skripsi yang berjudul “Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Kadar Dan Kemurnian DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 29 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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Putri Puji Lestari

NIM : 19040103

Program Studi : Sarjana Farmasi

Fakultas / Asal Instansi : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr Soebandi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi/laporan tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 25 Agustus 2023

Yang menyatakan,



(Putri Puji Lestari)

SKRIPSI

**PENGARUH SUHU PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
DAN KEMURNIAN DNA DAUN KELOR (*Moringa oleifera*
Lam.) MENGGUNAKAN WIZARD® GENOMIC DNA
*PURIFICATION KIT***

**Oleh:
Putri Puji Lestari
NIM. 19040103**

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- 1) Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, yang sudah berjasa dalam dalam hidup saya. Terima kasih atas do'a serta dukungan yang tak pernah henti dan selalu memberikan motivasi saya dalam mewujudkan cita-cita saya.
- 2) Terima kasih kepada semua Dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang luas serta motivasi selama perkuliahan.
- 3) Terima kasih kepada bapak dan ibu laboran Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah membantu dalam seluruh kegiatan penelitian di laboratorium.
- 4) Terima kasih kepada sahabat-sahabat saya Ramadhanies, Putri Kusuma, Novi Ahdina, Savania, Roudatul Jannah, Mila Aga, Rizka Handayani, Dinia, Nia dan Desi yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama penulisan skripsi ini.
- 5) Kepada teman saya Firda Makkiatul Ikrima seperjuangan di lab, terima kasih telah membantu dan mendukung selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
- 6) Teman Kuliah satu Angkatan terutama kelas 19 C Farmasi terima kasih untuk perjuangan yang kita lewati bersama.

MOTTO

*"Don't follow where the road will lead.... "Only education can save the future,
without education Indonesia would not be able to survive."*

“Jangan pergi mengikuti kemana jalan akan berujung...” Hanya pendidikan yang
bisa menyelamatkan masa depan, tanpa pendidikan indonesia tak mungkin
bertahan.”

ABSTRAK

Lestari, Putri*, Hidayati, Sholihatil **, Purwanti, Aliyah ***. 2023. **Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Kadar Dan Kemurnian DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Daun kelor memiliki potensi terhadap pengembangan obat. Daun kelor memiliki banyak kandungan seperti protein, serat, lemak, karbohidrat, mineral, kalsium, magnesium, fosfat, besi, sulfur, asam oksalat, vitamin A, kolin, *thiamine*, *riboflavin*, vitamin (B3, C dan E). DNA merupakan zat yang mengandung genetik untuk membuat protein atau informasi genetik yang dapat diturunkan dari satu generasi ke generasi lainnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kadar dan kemurnian hasil isolasi DNA daun kelor dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT. Metode penelitian ini eksperimental laboratorium. Kadar dan kemurnian hasil isolasi DNA daun kelor diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis metode Kit untuk isolasi DNA. Variasi suhu penyimpanan sampel yang dipilih yaitu -20°C, 3°C, 10°C dan menggunakan kulkas. Analisis data pada penelitian ini menggunakan metode uji *one way ANOVA*. Hasil pengukuran kadar dan kemurnian isolasi DNA daun kelor diperoleh pada suhu -20°C yaitu 191,477±50,702 ng/μL dan 1,9334±0,087, pada suhu 3°C yaitu 109,538±29,505 ng/μL dan 1,9108±0,200, sedangkan pada suhu 10°C yaitu 165,737±20,446 ng/μL dan 2,153±0,062. Suhu optimum isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diperoleh yaitu suhu -20°C dengan hasil kadar DNA sebesar 191,477±50,702 ng/μL, dan hasil kemurnian DNA sebesar 1,9334±0,087.

Kata kunci: DNA, Kelor, Suhu, KIT

- * Peneliti
- ** Pembimbing Utama
- *** Pembimbing Anggota

ABSTRACT

Lestari, Putri*, Hidayati, Sholihatil**, Purwanti, Aliyah***. 2023. **The Effect of Storage Temperature on Levels and DNA Purity of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam.) Using the Wizard® Genomic DNA Purification KIT.** Thesis. University of Pharmacy Undergraduate Study Program, dr. Soebandi.

Moringa leaves have potential for drug development. Moringa leaves contain many ingredients such as protein, fiber, fat, carbohydrates, minerals, calcium, magnesium, phosphate, iron, sulfur, oxalic acid, vitamin A, choline, thiamine, riboflavin, vitamins (B3, C and E). DNA is a substance that contains genetics to make proteins or genetic information that can be passed down from one generation to another. The aim of this research was to determine the effect of sample storage temperature on the content and purity of Moringa leaf DNA isolation results using the Wizard® Genomic DNA Purification KIT. This research method is laboratory experimental. The content and purity of the Moringa leaf DNA isolation results were tested using the UV-Vis spectrophotometry Kit method for DNA isolation. The variations in sample storage temperature chosen were -20°C, 3°C, 10°C and using a refrigerator. Data analysis in this study used *the one way* ANOVA test method. The results of measuring the content and purity of Moringa leaf DNA isolation were obtained at a temperature of -20°C, namely 191.477 ± 50.702 ng/μL and 1.9334 ± 0.087 , at a temperature of 3°C, namely 109.538 ± 29.505 ng/μL and 1.9108 ± 0.200 , while at a temperature of 10°C, namely 165.737 ± 20.446 ng/μL and 2.153 ± 0.062 . The optimum temperature for DNA isolation of Moringa oleifera leaves obtained was -20°C with DNA content results of 191.477 ± 50.702 ng/μL, and DNA purity results of 1.9334 ± 0.087 .

Keywords: DNA, Moringa, Temperature, KIT

* Researcher

** Main Advisor

*** Member Advisor

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. skripsi ini disusun dengan judul “Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Kadar Dan Kemurnian DNA Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT”

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- 1) Andi Eka Pratama, 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 Kesehatan Universitas 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

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 25 Agustus 2023

Penulis



(Putri Puji Lestari)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
SKRIPSI	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti.....	6
1.4.2 Manfaat Bagi Penelitian Lain.....	6
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat	6
1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan.....	6
1.5 Keaslian Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tanaman Kelor	9
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor	9
2.1.2 Nama Daerah Tanaman Kelor.....	9
2.1.3 Morfologi Tanaman Kelor	10
2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kelor.....	14
2.1.5 Khasiat Tanaman Kelor.....	14
2.1.6 Tinjauan Tanaman Kelor Dari Sisi Genetika.....	15
2.2 <i>Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)</i>	16
2.2.1 Kadar DNA.....	16
2.2.2 Kemurnian DNA.....	17
2.3 Isolasi DNA	17
2.3.1 Definisi Isolasi DNA	17
2.3.2 Mekanisme Kerja Isolasi DNA.....	18

2.3.3 Metode Isolasi DNA.....	20
2.3.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Suhu Isolasi DNA.....	23
2.4 Spektrofotometri UV -Vis	23
2.4.1 Definisi Spektrofotometri UV -Vis	23
2.4.2 Mekanisme Kerja Spektrofotometri UV-Vis.....	24
BAB 3 KERANGKA KONSEP.....	26
3.1 Kerangka Konsep	26
3.2 Hipotesis Penelitian	27
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	28
4.1 Desain Penelitian.....	28
4.2 Populasi dan Sampel.....	28
4.2.1 Populasi Penelitian.....	28
4.2.2 Sampel Penelitian.....	28
4.3 Variabel Penelitian	29
4.3.1. Variabel Bebas	29
4.3.2. Variabel Terikat	29
4.4 Tempat Penelitian.....	29
4.5 Waktu Penelitian	29
4.6 Definisi Operasional.....	29
4.7 Teknik Pengumpulan Data	30
4.7.1 Determinasi Tanaman	30
4.7.2 Preparasi Sampel.....	30
4.7.3 Isolasi DNA.....	31
4.7.4 Pengukuran Kadar DNA	32
4.7.5 Kemurnian DNA.....	33
4.8 Analisa Data	33
BAB 5 HASIL PENELITIAN	34
5.1 Determinasi Tanaman.....	34
5.2 Kadar DNA.....	34
5.3 Kemurnian DNA.....	37
BAB 6 PEMBAHASAN	41
6.1 Pengukuran Kadar DNA.....	41
6.2 Kemurnian DNA.....	45
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	48
7.1 Kesimpulan.....	48
7.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 2.1 Perbandingan kuantitas dan kualitas DNA tanaman <i>Cichorium intybus</i> yang diekstraksi dari daun yang dietiolasi dan tidak dietiolasi	19
Tabel 4.1 Definisi Operasional	30
Tabel 5.1 Hasil Kadar DNA.....	35
Tabel 5.2 Uji Normalitas Kadar DNA	35
Tabel 5.3 Uji Homogenitas Kadar DNA.....	36
Tabel 5.4 <i>Uji One Way Anova</i> Kadar DNA	36
Tabel 5.5 Hasil Data LSD Kadar DNA.....	37
Tabel 5.6 Hasil kemurnian DNA	37
Tabel 5.7 Uji Normalitas Kemurnian DNA	38
Tabel 5.8 Uji Homogenitas Kemurnian DNA.....	38
Tabel 5.9 <i>Uji One Way Anova</i> Kemurnian DNA.....	39
Tabel 5.10 Hasil LSD Kemurnian DNA.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Kelor.....	10
Gambar 2.2 Batang kelor	11
Gambar 2.3 Bunga kelor	12
Gambar 2.4 Buah kelor	12
Gambar 2.5 Biji kelor.....	13
Gambar 2.6 Akar kelor.....	13
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi Tanaman.....	58
Lampiran 2 Isolasi DNA	60
Lampiran 3 Pengukuran Kadar Dan Kemurnian.....	65
Lampiran 4 Analisis Data Kadar.....	70
Lampiran 5 Analisis Data Kemurnian.....	72

DAFTAR SINGKATAN

μL	: <i>mikroliter</i>
Abs	: <i>Absorbansi</i>
C	: <i>Celcius</i>
cm	: <i>Sentimeter</i>
CTAB	: <i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
m	: <i>meter</i>
MDPL	: <i>Meter Diatas Permukaan Laut</i>
mL	: <i>mililiter</i>
ng	: <i>nano gram</i>
nm	: <i>nanometer</i>
<i>p</i>	: <i>probalitas</i>
PCI	: <i>Phenol Choloroform Isoamylalcohol</i>
rpm	: <i>rotations per minute</i>
SDS	: <i>Sodium Dodesil Sulfat</i>
sig	: <i>signifikasi</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultra Violet Visible</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman sumber daya alam hayati yang besar serta mempunyai potensi dengan pengembangan tanaman obat dalam bidang kesehatan. Salah satu pemanfaatan tanaman obat yang bisa digunakan masyarakat sebagai ramuan tradisional adalah daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*). Tanaman daun kelor merupakan tanaman dengan bentuk daun yang kecil dengan warna hijau yang berasal dari lereng Gunung Himalaya atau India Utara, kemudian keberadaannya tumbuh menyebar ke Benua Afrika, negara-negara dengan cuaca tropis dan sub tropis seperti Indonesia. Budidaya tanaman ini di Indonesia banyak tersebar di daerah Nusa Tenggara Timur dengan ketinggian wilayah 700 mdpl serta ciri fisik ketinggian tanaman daun kelor berkisar antara 7-11 meter (Ballo dan Nge, 2020).

Tanaman daun kelor mampu bertahan pada musim kemarau dengan toleransi waktu selama ± 6 bulan. Daun kelor juga memiliki banyak kandungan seperti protein, serat, lemak, karbohidrat, mineral, kalsium, magnesium, fosfat, besi, sulfur, asam oksalat, vitamin A, vitamin B (kolin), vitamin B1 (*thiamine*), vitamin B2 (*riboflavin*), vitamin B3, vitamin C dan vitamin E. Organel sel tumbuhan mempunyai pembuluh yang didalamnya mengandung DNA berupa nukleus, mitokondria dan kloroplas. tanaman kelor (*Moringa oleifera Lam.*) merupakan senyawa biologis seperti anti atherosklerotik, hepatoprotektif, anti peroksidatif, antiproliferasi, pelindung rusaknya DNA karena agen pengoksidasi,

kardioprotektif juga beragam kegunaan medis seperti inhibitor alfa glukosidase (Ilsan dkk., 2018).

Marhaeni (2021) memaparkan bahwa tanaman daun kelor memiliki manfaat yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk bahan masakan dalam sehari-hari, selain itu daun kelor juga bisa digunakan sebagai kesehatan seperti mencegah diabetes, mengurangi peradangan, menurunkan kolesterol, melindungi dari keracunan arsenik, melawan radikal bebas, tinggi nutrisi, menjaga kesehatan prostat, menurunkan berat badan, dan menurunkan kadar asam urat.

Dalam bidang bioteknologi tanaman daun kelor ini, lebih ke pengembangan ilmu untuk pengembangan obat. Dalam teknik analisis molekuler isolasi DNA merupakan Langkah pertama yang harus diselesaikan sebelum melanjutkan ke Langkah berikutnya yaitu isolasi DNA genom. Prinsip isolasi DNA yang memperoleh DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel, seperti protein. DNA memberikan peluang untuk mengembangkan dan mengkarakterisasi genetika varietas tanaman. Pendekatan genetik molekuler dengan menggunakan penanda DNA telah berhasil mengembangkan kemampuannya mendeteksi gen dan sifat tertentu untuk menilai keanekaragaman dan evolusi pada tingkat genetik (Hapsari, 2012).

Isolasi DNA adalah pemisahan molekul DNA dari komponen sel. Isolasi DNA ada dua prinsip yaitu, sentrifugasi dan pengendapan. Gaya sentrifugasi dan perbedaan berat molekul adalah cara kerjanya sentrifugasi, sedangkan pengendapan DNA dipisahkan dari zat lain di dalam sel menjadi prinsip kerja dari

presipitasi. Tahapan isolasi secara umum yaitu sentrifugasi, inkubasi dan presipitasi (Oktavia *et al.*, 2021).

Proses isolasi DNA diawali dengan penghancuran dinding dan membran sel. Tujuannya yaitu untuk mengeluarkan DNA dari sel. Penghancuran dinding sel dapat dilakukan secara kimiawi maupun mekanik. Cara mekanik bisa dilakukan dengan cara di blender atau penggerusan menggunakan mortir, sedangkan secara kimiawi dapat dilakukan dengan menambahkan bahan-bahan yang dapat merusak membrane sel dan nukleus, salah satunya deterjen. Dimungkinkan untuk menambahkan deterjen ke pemisahan DNA, karena deterjen ini tidak hanya dapat melisiskan membrane sel, tetapi juga mengurangi aktivitas nukleus yang merupakan enzim pendegrasi DNA (Wahyuni, 2011).

Isolasi DNA tumbuhan umumnya merekomendasikan menggunakan nitrogen cair selama penggilingan sampel jaringan tanaman. Nitrogen cair berfungsi membekukan jaringan sehingga lebih mudah untuk melakukan pelisisan sel secara mekanik, yaitu melalui penggerusan. Namun demikian, harga nitrogen cair sangat mahal dan membutuhkan ruang pendingin dan tangki penyimpanan khusus sehingga nitrogen cair jarang digunakan di negara berkembang. Nitrogen cair memiliki keterbatasan yaitu mudah meledak, resiko tinggi, Sehingga sebagai pengganti nitrogen cair sampel disimpan di *freezer* dengan variasi suhu yang telah ditentukan (Retnaningati, 2021). Pemilihan pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ sering digunakan dilaboratorium dimana perbedaan suhu akan ada pengaruh dengan adanya kadar dan kemurnian DNA, Karena kadar dan kemurnian DNA

sangat penting untuk penelitian selanjutnya. Dalam bidang molekuler DNA, jika disimpan di suhu 10 °C (Sinaga, 2017).

Keberadaan DNA dalam suatu organisme dapat ditentukan dengan dua cara, yaitu kadar dengan spektrofotometri dan kemurniannya dengan spektrofotometri. Uji kandungan DNA adalah analisis dengan pengujian kualitatif untuk mengetahui kandungan atau kemurnian DNA yang terkandung dalam larutan sampel atau komposisi bahan yang diketahui mengandung DNA plasmid (Dewanata, 2021).

Pada penelitian ini menggunakan metode KIT ekstraksi DNA (wizard genomic DNA *purification kit*). Metode ini merupakan metode yang dikeluarkan oleh *promega corporation* dan teruji hasilnya. Metode KIT banyak digunakan karena kelebihanannya yang relatif lebih cepat dan mudah dalam proses pengaplikasian dan pengerjaannya karena dalam bentuk KIT komersial (Faradisa dkk., 2021). Cara kerja metode KIT cenderung lebih efektif jika dilihat dari perolehan nilai hasil kemurnian isolasi DNA (Rahmadani & Fitmawati, 2022). Kit terdiri dari beberapa reagen yang berfungsi memisahkan komponen sel dalam jaringan tumbuhan (Octavia, 2021). Optimasi dalam prosedur dapat dilakukan terhadap suhu dan lama inkubasi yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi DNA (Retnaningati, 2021).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap kadar dan kemurnian hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan Wizard® genomic DNA *Purification KIT* pada suhu penyimpanan sampel.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.) Bagaimana kadar dan kemurnian hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT dengan pengaruh suhu penyimpanan sampel?
- 2.) Berapakah suhu optimum dalam isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kadar dan kemurnian hasil isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kadar DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) yang diisolasi dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.
- 2) Mengidentifikasi pengaruh suhu penyimpanan sampel DNA terhadap kemurnian daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) yang diisolasi menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.
- 3) Menganalisis pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap kadar dan kemurnian DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.

4) Menganalisis suhu optimum penyimpanan sampel dalam isolasi DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Dapat mengetahui pengaruh kadar dan kemurnian DNA pada daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT.

1.4.2 Manfaat Bagi Penelitian Lain

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dan acuan dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian kadar dan kemurnian DNA pada daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT yang sederhana dari bahan alam serta dapat digunakan untuk mendapatkan informasi dan referensi.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Peneliti ini diharapkan dapat memberikan informasi serta pengetahuan untuk kemajuan dalam bidang kesehatan.

1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi kontribusi penambahan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kefarmasian terkait kadar dan kemurnian DNA pada daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification KIT, dapat menjadi bahan bacaan di perpustakaan, serta dapat menjadi referensi bagi mahasiswa lain.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Septi Kurniama Sari, Muthia Naila Mazieda, Dwi Listyorini, dan Eko Sri Sulasmi	(2014)	Optimasi Teknik Isolasi Dan Purifikasi Dna Pada Daun Cabai Rawit (<i>Capsicum Frutescens</i> Cv. <i>Cakra Hijau</i>) Menggunakan Genomic Dna Mini Kit (<i>Plant</i>) Geneaid	Metode : Mini Kit (<i>Plant</i>) Geneaid Sampel : Daun Cabai Rawit Hasil : Hasil penelitian menunjukkan Panjang gelombang yang digunakan untuk pengukuran konsentrasi menggunakan spektrofotometer adalah 260 nm untuk DNA dan 280 nm untuk protein. DNA dinyatakan murni jika punya nilai rasio OD260/280 1,8-2,0 Rasio < 1,8 menunjukkan DNA terkontaminasi fenol atau protein hasil ekstraksi sedangkan rasio > 2,0. konsentrasi DNA yang semakin meningkat, yakni 69,9, 113,4, dan 194,7 $\mu\text{L}/\text{mL}$. konsentrasi DNA tinggi diperoleh pada perlakuan inkubasi 60°C.
Dewi Retnaningati	(2020)	Optimasi Metode Ekstraksi DNA pada Melon (<i>Cucumis melo L.</i>) Berdasarkan Suhu, Lama Inkubasi, dan Kondisi Daun Optimization of DNA Extraction Method on Melon (<i>Cucumis melo L.</i>) Based on Temperature, Incubation Time and Condition of Leaf	Metode : Ekstraksi Sampel : Melon Hasil : Hasil penelitian menunjukkan yang didinginkan terlebih dahulu pada suhu -20°C selama semalaman menghasilkan DNA dengan konsentrasi dan kemurnian yang lebih tinggi dibanding DNA hasil ekstraksi dari sampel daun segar. perlakuan inkubasi pada suhu 65°C selama 20 menit menghasilkan konsentrasi DNA tertinggi yaitu 2707.6 ng/ μL , sementara perlakuan inkubasi suhu 70°C selama 10 menit menghasilkan DNA dengan kemurnian paling tinggi yaitu 1.94. dari bahan daun dingin.
(Nurul Iqsan Oktavia Pangestil, Fatiqinl, Pratiwi Erika)	(2020)	Perbandingan Antara Kualitas DNA Daun Menggunakan Metode KIT (<i>Promega</i>) dan Metode Manual	Metode : KIT (<i>Promega</i>) dan manual. Sampel : Daun Sawit Hasil : Hasil penelitian menunjukkan Pada metode manual dengan Panjang gelombang $\lambda_{260/280}$ tidak menunjukkan nilai kemurnian, 1,8 – 2,0. Nilai kemurnian DNA tertinggi yaitu 1,615 pada sampel d1 dan nilai kemurnian DNA terendah yaitu 0,707 pada sampel d14.
Devi Octavia, Arnia Sari Mukaromah, Irfan	(2021)	Isolasi DNA Tumbuhan Hasil	Metode : KIT. Sampel : Tumbuhan

Martiansyah, Mimin, S Ma'mun, Herman Rukmanto	Eksplorasi Di Nusakambangan Dengan Metode KIT Di Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor.	Hasil : Hasil penelitian menunjukkan Jumlah sampel yang berhasil diekstraksi DNA nya adalah sebanyak 13 sampel dari total seluruh sampel 32 sampel. Kemurnian DNA dapat dilakukan dengan spektrofotometer nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, AS). Konsentrasi DNA diharapkan akan memperoleh nilai DNA 100-250ng mL ⁻¹ dengan kemurnian antara 1,8-2,0 pada rasio A260/280.
(Emilia & Anhar, (2021) 2021)	Optimalisasi Metode Ekstraksi DNA Daun, Kulit Kayu Dan Kayu Pinus Merkusii Jungh. Et De Vriese	Metode : ekstraksi CTAB Sampel : Daun Kulit Kayu Hasil : Memperoleh hasil kemurnian DNA yang lebih bagus baik pada uji kuantitas maupun uji kualitas. Semua metode memperoleh nilai optical density ratios di luar rentang kemurnian ($\lambda_{260/280}$ = 1.8 – 2.0 ng/ μ L dan $\lambda_{260/230}$ = 2.0 ng/ μ L) pada sampel kayu, kulit kayu dan sampel daun khusus metode DNeasy Plant Mini Kit dan memperoleh nilai optical density ratios mencapai 1.8-2.0 ng/ μ l pada sampel daun dari metode CTAB dan metode CTAB dengan mercaptoethanol. CTAB tidak menunjukkan kemunculan pita DNA sedangkan metode DNeasy Plant Mini Kit menunjukkan pita DNA.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor

Tanaman kelor memiliki sistematika tanaman seperti, nama daerah, morfologi tanaman, kandungan senyawa kimia, dan khasiat tanaman.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kelor

Menurut Isnan, (2017) Klasifikasi tanaman kelor (*Moringa oleifera Lam.*) terdiri atas sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledone</i>
Sub Kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Rhocadales (Brassicales)</i>
Famili	: <i>Moringaceae</i>
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>

2.1.2 Nama Daerah Tanaman Kelor

Tanaman kelor dikenal di kalangan daerah di Indonesia dengan berbagai nama yang berbeda – beda di setiap wilayah, seperti kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), moronggih (Madura), kelo (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggai (Sumatera), hau fo (Timor) dan moltong (Flores) (Marhaeni 2021).

2.1.3 Morfologi Tanaman Kelor

1) Tanaman kelor



Gambar 2.1 Tanaman Kelor (Dokumen Pribadi)

Daun kelor memiliki daun yang berbentuk majemuk menyirip ganda 2-3 tempunya tersebar, tanpa daun penumpu, atau daun penumpu mengalami metamorfosis berupa kelenjar-kelenjar pada pangkal tangkai daun. Hijau muda saat sudah dewasa, bentuk helai daun bulat telur dan memiliki Panjang 1-2 cm, lebar 1-2 cm, lunak. Daun kelor muda yang dipetik dari pohon yang kurang lebih dari tangkai daun pertama dibawah pucuk hingga sampai tangkai daun ketujuh yang masih hijau.

Daun muda umumnya memiliki kandungan vitamin dan enzim yang tinggi karena diperlukan dalam proses pertumbuhan, dan perkembangan dan pembelahan sel- sel pada daun. Daun kelor muda juga bisa mengobati penyakit seperti asam urat. Tanaman daun kelor di Jawa Timur mempunyai morfologi daun berwarna hijau yang tidak lengkap dengan tangkai daun serta helaian daun, daging daun cenderung tipis, batang tangkai daun tebal pada pangkal dan ujung pangkal, mempunyai bentuk daun bulat dengan ujung tumpul serta tepi daun rata. Batang pohon tumbuhan tegak dengan arah tumbuh tegak lurus dengan bentuk kayu bulat,

permukaan kasar untuk usia pohon dewasa, untuk kelompok usia pohon muda bertekstur permukaan halus dengan percabangan batang tipe monopodial (batang selalu tampak jelas yang lebih besar dan panjang) (Ula dkk., 2020).

2) Batang Tanaman Kelor



Gambar 2.2 Batang kelor (Dokumentasi pribadi)

Batangnya berbentuk tegak, keputih-putihan, kulit tipis, permukaan kasar, arah cabang tegak atau miring, biasanya tumbuh lurus dan memanjang. Arah cabang vertikal karena sudut antara batang dan cabang sangat kecil (Laras, 2018). Batang daun kelor ini digunakan dalam pakan ternak, sebagai obat sakit perut, batuk dan demam (Purba, 2020).

Menurut Isnan, (2017) Batang tanaman kelor dimanfaatkan sebagai tanaman pagar oleh masyarakat yang ditanam dibelakang dan disamping rumah. Ada juga orang yang memanfaatkan sebagai tanaman pembatas dan mengoptimalkan menggunakan tanah atau bebatuan, bagian yang dapat dimakan adalah cangkang dari daun kelor. Kulit kayunya dikikis ke bagian kayunya dan kemudian ditaburkan diatas daging atau ikan yang sudah dimasak. Dan ada juga yang dimanfaatkan sebagai Batang kelor dimanfaatkan sebagai rubefacient, vesicant, menyembuhkan penyakit mata, untuk pengobatan pasien mengigau, mencegah pembesaran limpa dan untuk menyembuhkan bisul (Rakhmad, 2022).

3) Bunga Tanaman kelor



Gambar 2.3 Bunga kelor (Hafiz, 2016)

Bunganya muncul di ketiak daun, dengan batang Panjang, kelopak putih agak sedikit krem dan bau aneh (Zapino, 2022). Bunga daun kelor ini memiliki Panjang sekitar 10-15 cm, 5 kelopak dikelilingi oleh 5 benang sari dan stamidon, daun kelor ini berbunga muncul sepanjang tahun (Laras, 2018).

4) Buah Tanaman Kelor



Gambar 2.4 Buah kelor (Sotyati, 2016)

Buah kelor dengan Panjang berbentuk segitiga dan Panjang 20-60 cm, buah muda berwarna hijau dan coklat tua. Buah kelor menghasilkan biji yang dapat dibuat menjadi tepung atau minyak sebagai bahan baku untuk produksi obat dan kosmetik yang bernilai (Aminah, 2015). Buah daun kelor ini juga bisa digunakan untuk sayuran.

5) Biji Tanaman Kelor



Gambar 2.5 Biji kelor (Aditya, 2021)

Biji yang berada didalam polong berbentuk bulat dan berwarna coklat kehitaman, setiap polong berisi 12-35 biji dan setiap tanaman kelor bisa menghasilkan 15.000 hingga 25.000 biji pertahun (Laras, 2018). Biji daun kelor juga bisa menyembuhkan penyakit sakit perut (Purba, 2020).

6) Akar Tanaman Kelor



Gambar 2.6 Akar kelor (Krisnadi, 2015)

Akar tanaman kelor berwarna putih, akar ini bisa membengkak seperti lobak, kulit akarnya berasa pedas dan berbau tajam, permukaan dalam berwarna kuning pucat dengan garis-garis halus, tidak keras, tidak beraturan, permukaan luar kulit cukup halus dan permukaan dalam sedikit berserat. Kayunya berwarna coklat muda dan ujungnya berserabut (Laras, 2018). Akar daun kelor ini juga bisa menyembuhkan penyakit gondok, kolesterol, batuk, demam, asam urat, dan kencing manis (Purba, 2020).

2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kelor

Tanaman daun kelor merupakan salah satu tanaman yang banyak diteliti mengandung gizi dan kegunaannya pada bidang Kesehatan di bagian daunnya, daun kelor kaya nutrisi penting yaitu vitamin, antioksidan, asam amino, anti inflamasi, dan asam lemak omega 3 dan 6. Zat yang terkandung didalam daun kelor yang bekerja dalam sumber antioksidan yang berupa senyawa aktif alkaloid, tannin, saponin, fenol, flavonoid, steroid, glikosida, triterpenoid (Britany, 2021).

Menurut (Simbolan *et al.*, 2007) di dalam daun kelor mengandung berbagai macam asam amino yang berbentuk asam aspartat, asam glutamate, alanin, leusin, isoleusin, lisin, venilalanin, triptopan, methionine, histidine. Selain itu daun, akar dan kulit batang daun kelor mengandung saponin dan polifenol, sedangkan kulit batangnya mengandung alkaloida dan untuk daunnya mengandung minyak atsiri.

2.1.5 Khasiat Tanaman Kelor

Dari beberapa bagian tanaman kelor berfungsi sebagai antibakteri, antimikroba, antioksidan, antitumor, antiinflamasi, antihipertensi, anti-jamur, diuretik, stimulan jantung dan peredaran darah, dan juga bisa menurunkan kolesterol. Dari seluruh bagian tanaman kelor telah dimanfaatkan sebagai obat-obatan maupun bahan pangan (Kurniawan, 2020). Tanaman daun kelor ini sering digunakan sebagai obat pada bagian biji, daun, kulit kayu. dan Dari beberapa literatur yang ada, diketahui daun kelor memiliki khasiat untuk mempercepat penyembuhan berbagai penyakit seperti flu dan pilek, kanker, cacangan, bronkhitis, radang, dan tiroid. Daun kelor ini juga bisa mencegah virus herpes simplek dan HIV/ AIDS (Wulandari, 2018).

2.1.6 Tinjauan Tanaman Kelor Dari Sisi Genetika

Analisis keanekaragaman genetik tanaman kelor (*Moringa oleifera Lam.*) berdasarkan penanda KIT tujuannya adalah untuk mendapatkan keragaman pola pita DNA tanaman kelor dan pengelompokan pola pita DNA tanaman berdasarkan (*Moringa oleifera Lam.*) berdasar penanda KIT. Analisis keragaman genetika bertujuan untuk mencari tahu keanekaragaman genetik dan hubungan-hubungan antara tanaman yang akan dipelajari. Panjang pendeknya primer mempengaruhi hasil amplifikasi dan kespesifikan pita DNA dan Pita DNA yang dihasilkan tebal berbeda dengan Ukuran DNA mempengaruhi keragaman suatu spesies dan sangat berpengaruh pada hubungan kekerabatannya (Ballo *et al.*, 2020).

Keragaman genetika merupakan faktor penting dalam menjaga kelangsungan hidup suatu spesies tumbuhan kelor. Penentuan keragaman genetika dilakukan untuk melihat hubungan yang relavansi pada sampel daun kelor, analisis genetika tanaman dapat ditentukan dengan identifikasi molekuler DNA (Danilo Gomes de Arruda, 2021). DNA pada daun kelor merah dan daun kelor putih muda memiliki pola pita DNA yang berbeda. Salah satunya pita polimorfik pita ini menandakan keragaman suatu populasi. Pada kelor merah memiliki 7 pita DNA dan kelor putih memiliki 5 pita DNA. Pola pita DNA yang dihasilkan menunjukkan adanya keragaman pola pita DNA antara 2 varietas kelor. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ballo *et al.*, (2020) diperoleh kemurnian DNA kelor merah sebesar 1,667 dan kemurnian kelor putih sebesar 1,00.

2.2 Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) merupakan zat yang mengandung genetik untuk membuat protein atau informasi genetik yang dapat diturunkan dari satu generasi ke generasi lainnya. Sebuah molekul harus melalui empat proses untuk dianggap sebagai materi genetik. DNA merupakan heliks ganda Polimer DNA yang merupakan dari monomer nukleotida yang terdiri dari deoksiribosa, fosfat, dan empat basa organik (adenin, guanin, timin, dan sitosin). Nukleosida adalah sekelompok gula deoksiribo yang digabungkan dengan salah satu dari basa (A, G, T, dan S). Meskipun nukleotida mengandung gula deoksiribosa atau ribosa, fosfat, dan basa nitrogen. Untai DNA juga disebut rantai polinukleotida, yang terdiri dari rangkaian nukleotida dengan komponen gula dan fosfat (Dewi, 2017).

DNA dapat diekstrak oleh sel tumbuhan dan mengandung beberapa kontaminan, seperti polisakarida, protein, dan metabolit sekunder, seperti polifenol, tanin, dan alkaloid, yang dapat mempengaruhi tingkat kemurnian DNA. Dengan adanya kontaminan seperti polisakarida dan polifenol dapat menghambat beberapa aktivitas enzim, seperti DNA polymerase dan enzim restriksi, sehingga DNA tidak dapat diamplifikasi (Abdel-Latif dan Osman, 2017).

2.2.1 Kadar DNA

Optimalisasi dengan ekstraksi kadar DNA untuk menunjukkan kualitas maupun kuantitas baik dan kurang baik ditentukan dari pengaplikasian metode isolasi DNA secara maksimal pada tanaman khususnya untuk jenis tanaman kehutanan (Farhanah dkk., 2021). Optimasi DNA yang ditandai dengan adanya Panjang gelombang 260 nm yang menunjukkan bahwa primer mampu

mengaplikasi gen yang dituju untuk tahapan proses optimasi DNA (Oktavianti dkk., 2019). Kesesuaian optimasi kelayakan DNA secara fisik ditunjukkan dengan ukuran dan panjang gelombang DNA. Pengukuran kadar DNA dilakukan dengan Spektrofotometer UV-Vis (Balladona dkk., 2016).

2.2.2 Kemurnian DNA

Kemurnian DNA adalah persyaratan sebuah studi reaksi berantai *polimerase* (PCR) di mana kemurnian DNA 1-2 dan (idealnya 1,8-2,0) dimungkinkan amplifikasi. Salah satu indikator dalam penentuan keberhasilan proses ekstraksi DNA ditentukan dari tingkat kemurnian DNA yang di pengaruhi berdasarkan jenis tumbuhan, kandungan di dalam tumbuhan serta melalui perlakuan suhu dan waktu (Sadikin dkk., 2021).

Pengukuran kemurnian DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein diukur pada panjang gelombang 280 nm. Kemurnian larutan DNA dapat dihitung melalui perbandingan A260 nm dengan A280 nm. Batas kemurnian yang biasa digunakan dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8 – 2,0 (Harahap, 2017).

2.3 Isolasi DNA

2.3.1 Definisi Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan sebuah teknik menghilangkan molekul DNA dari sel. Isolasi DNA tumbuhan dapat di isolasi dari berbagai organ seperti daun, batang, dan akar, namun umumnya bagian yang digunakan adalah daun muda. Daun muda dianggap belum banyak mengandung metabolit sekunder yang dapat

mengganggu hasil isolasi DNA. Umumnya Teknik isolasi tumbuhan memiliki prinsip yang sama, hanya saja perlu dilakukan modifikasi untuk mendapatkan hasil yang optimal dari berbagai sampel yang berbeda (Nurafni, 2021).

Isolasi DNA berguna sebagai salah satu tahapan penting dalam kegiatan memperoleh informasi genetik dan analisis genetik. DNA dengan kualitas bagus untuk kegiatan seperti penggunaan penanda molekuler, pembuatan Pustaka genomik, pengurutan prinsip pemisahan DNA meliputi tiga Langkah-Langkahnya, yaitu: lisis (penghancuran) dinding dan membran sel, ekstraksi dalam larutan, pemurnian (purification) dan prinsip dasar (Rizko *et al.*, 2020). Isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni selain organel sel, karbohidrat, protein dan lipid (Murtyaningsih, 2017).

2.3.2 Mekanisme Kerja Isolasi DNA

Langkah pertama dalam isolasi DNA adalah penghancuran (lisis) dengan Dinding dan membran sel tumbuhan. Lisis juga bisa dilakukan dengan penggilingan fisik, *freeze-thaw* dan homogenisasi dan secara mekanisme kimia dengan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*). Biasanya ditemukan dalam deterjen (Murtyaningsih, 2017). Penguraian tanaman telah dilakukan menggunakan enzim pencernaan yang biasanya menggunakan proteinase, yang memecah protein dengan cepat menonaktifkan enzim nukleus. Proses diatas menjadi fasilitator selama isolasi dan pemurnian DNA (Knebelberger, 2012). Langkah kedua adalah menghilangkan protein dari DNA. Langkah ketiga dilakukan dengan presipitasi DNA dengan dua spesies alkohol yaitu isopropanol dan etanol (Puspitaningrum *et al.*, 2018).

1) Lisis Dinding

Proses lisis merupakan proses pertama yang menentukan keberhasilan isolasi DNA pada tahap lisis yang dapat digunakan dengan cara yang berbeda yaitu metode kimia yang menggunakan enzim seperti proteinase K dan SDS, dan nitrogen cair (Sabrina dkk, 2022). Tahap lisis ini bertujuan untuk menghancurkan sel tanaman dan organelnya, kemudian mengeluarkan DNA dari inti sel tanpa merusak DNA. Dua faktor penting yang memerlukan perhatian pada tahap ini, yaitu Teknik homogenisasi atau penghancuran jaringan tanaman secara fisik dan kimiawi dan komposisi buffer pada ekstraksi sesuai dengan data primer Penelitian Michiels *et al.* yang ditunjukkan tabel 2.1 sebagai berikut (Nugroho dkk., 2022).

Tabel 2.1 Perbandingan kuantitas dan kualitas DNA tanaman *Cichorium intybus* yang diekstraksi dari daun yang dietiolasi dan tidak dietiolasi

Metode	Jaringan	Sampel DNA(μ g)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀
Kit Komersil	Daun dari tanaman berumur 15 hari	40 \pm 6	1,55 \pm 0,06	0,89 \pm 0,08
	Daun dari tanaman berumur 30 hari	24 \pm 6	1,58 \pm 0,09	0,73 \pm 0,10
	Daun yang dietiolasi	53 \pm 8	1,77 \pm 0,06	0,93 \pm 0,03
CTAB	Daun dari tanaman berumur 15 hari	45 \pm 7	1,68 \pm 0,12	1,23 \pm 0,14
	Daun dari tanaman berumur 30 hari	50 \pm 12	1,47 \pm 0,05	1,05 \pm 0,07
	Daun yang dietiolasi	78 \pm 3	1,85 \pm 0,09	1,53 \pm 0,15
CTAB yang dioptimasi	Daun dari tanaman berumur 15 hari	47 \pm 9	1,87 \pm 0,04	1,49 \pm 0,07
	Daun dari tanaman berumur 30 hari	43 \pm 4	1,82 \pm 0,10	1,38 \pm 0,08
	Daun yang dietiolasi	140 \pm 13	1,96 \pm 0,03	2,14 \pm 0,04

Sumber: Penelitian Michiels *et al.* (2003) dalam Nugroho dkk., (2022).

2) Presipitasi

Presipitasi (pengendapan) dilakukan dengan memisahkan DNA dari kontaminan dengan menambahkan alkohol kloroform Isoamil alkohol. Kloroform

adalah pelarut organik yang dapat melarutkan protein, lipid, dan molekul lainnya seperti polisakarida. Penambahan PCI (phenol chloroform Isoamylalcohol) yang mengandung fenolik untuk memaksimalkan pengendapan fenol, menjadi senyawa yang mampu mengikat protein (Hidayat, 2015). Presipitasi dapat dilakukan dengan adanya suhu dingin (-20°C) dengan tujuan untuk mengendapkan DNA (Murtiyaningsih, 2017).

3) Purifikasi

Purifikasi merupakan pemisahan DNA dari kontaminan seperti polisakarida, protein, senyawa fenolik, pigmen, dan sel debris yang dilakukan dengan menambahkan pelarut organik, seperti fenol, dan kloroform, dan isoamil alkohol, dengan kombinasi dengan senyawa fenol dan kloroform yang berperan dalam mendenaturasi protein, sedangkan isoamil alkohol mencegah pembentukan-pembentukan emulsi dan membentuk pengendapan DNA (Kristianto, 2022).

2.3.3 Metode Isolasi DNA

Metode isolasi DNA yang digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman bergantung pada hal ini seperti spesies, morfologi dan fisiologi tumbuhan yang diisolasi. Teknik isolasi DNA bisa digunakan dalam tumbuhan yang memerlukan beberapa modifikasi pada metode yang sudah ada, misalnya menggunakan antioksidan polivinil polipirilindon (PVPP) dan merkaptoetanol juga menggunakan nitrogen cair untuk menghancurkan jaringan dan membantu memperpanjang pengawet sampel sebelum dibersihkan (Syafaruddin *et al.*, 2011).

1) Isolasi DNA Metode KIT

Metode ekstraksi DNA menggunakan Kit adalah metode yang diterbitkan oleh perusahaan Promega dan Kit untuk ekstraksinya. Metode ini telah menunjukkan hasil isolasi DNA dari segi kuantitas dan kualitas DNA yang dihasilkan tetapi kerugian menggunakan Kit dari prosedur ini diperlukan, biayanya cukup tinggi. Hasil isolasi DNA menggunakan DNA *extraction* Kit dapat menghasilkan isolat DNA genomik yang berukuran besar dan berkualitas baik (Mulyani *et al.*, 2011).

KIT ekstraksi tersedia untuk sampel yang berbeda tergantung pada tujuan penggunaan, misalnya untuk ekstraksi jaringan darah, jaringan tanaman dan bakteri. Saat ini, Kit ekstraksi komersial yang banyak digunakan oleh para peneliti sebagai metode alternatif untuk ekstraksi organik dari sumber genetik yang berbeda dengan pelakuan yang berbeda, tidak hanya mudah dan cepat digunakan, tetapi juga kualitasnya relatif bersih (Ariyanti, 2019). Metode Kit ini memiliki kerugian pada beberapa peneliti yang membandingkan metode ekstraksi yang tepat untuk banyak sampel dengan perlakuan yang berbeda dan tidak semua Kit komersial mampu mengumpulkan DNA pada konsentrasi tinggi kelebihan Kit *Promega* ini sangat relatif dan dapat menjamin kemurnian dalam isolasi DNA sehingga terjamin kualitasnya (Mulyani *et al.*, 2011).

2) Isolasi DNA Metode Fenol- Kloroform

Metode ini adalah pemisahan fase cair. pemisahan fenol kloroform umumnya dibagi menjadi tiga Langkah, proses lisis sel, isolasi DNA dan Pemurnian DNA. Proses lisis sel dengan menambahkan deterjen sodium dodecyl sulfate (SDS) dan tambahan proteinase-K untuk pencernaan enzimatik pada tahap awal pemisahan. Tambahan peran SDS adalah melarutkan lipid dalam membrane sel dan mengikat

protein dan polisakarida pada membrane sel, yang menyebabkan terbuka oleh membrane sel. Selain peranya dalam penghancuran sel, penambahan SDS juga digunakan untuk mengurangi aktivitas nuclease (enzim yang mendegradasi DNA). Enzim Proteinase-K akan memecahkan gugus karboksil asam amino dalam ikatan peptida. Proses lisis dalam larutan salt tris EDTA, tris berperan sebagai buffer untuk mencegah kerusakan DNA dengan pH dengan rentang normal (pH 8) (Hutami *et al.*, 2017).

3) Isolasi DNA Metode CTAB

Metode CTAB merupakan metode yang paling banyak digunakan dan metode yang paling dimodifikasi. Metode CTAB telah banyak dipilih untuk mengoptimalkan ekstraksi DNA karena umumnya digunakan untuk mengekstraksi tumbuhan yang kaya akan polisakarida dan metabolit sekunder lainnya (Metabolites, 2022). Metode CTAB ini menghasilkan kelompok DNA dengan ketebalan dan dapat memisahkan DNA dari polisakarida karena perbedaan kelarutan. Metode ini memiliki keunggulan yaitu pita DNA yang dihasilkan lebih tebal dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi fenol dan tanpa fenol (Triani, 2020).

4) Isolasi DNA Metode EDTA (*Ethylenediamine Tetraacetic Acid*)

EDTA berperan untuk melemahkan kekuatan dinding sel sehingga dapat ion magnesium yang merupakan faktor enzim nucleus. Ion magnesium merupakan cara kerja untuk mempertahankan integritas sel dan aktivitas enzim nucleus. EDTA akan mengikat ion magnesium agar aktivitasnya menurun (Liana, 2017).

2.3.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Isolasi DNA

Proses isolasi DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor mulai dari umur jaringan, jenis jaringan serta proses persiapan jaringan yang digunakan untuk tahapan sebelum isolasi DNA dan pengoptimalan homogenisasi jaringan (Asmania dan Herman, 2022). Perlakuan pada konsentrasi DNA dibagi menjadi tiga jenis, yaitu perlakuan suhu dan perlakuan waktu Interaksi antara inkubasi dan suhu dan masa inkubasi. Ketiga faktor tersebut menunjukkan pengaruh yang nyata dalam perubahan suhu terhadap konsentrasi DNA. Sedangkan dalam proses lama inkubasi tidak berpengaruh secara signifikan, dan untuk interaksi antara lama suhu dan inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi (Langga *et al.*, 2012).

Faktor penghambat isolasi DNA yang dihasilkan selama ekstraksi DNA dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti faktor suhu inkubasi, jika suhu terlalu tinggi maka DNA akan rusak, dan jika suhu terlalu rendah maka membran sel tidak akan rusak, faktor lainnya adalah waktu inkubasi, jika waktu inkubasi DNA terlalu lama dapat merusak DNA, dan terlalu sebentar tidak dapat merusak jaringan membran sel dan jaringan (Emilia & Anhar, 2021).

2.4 Spektrofotometri UV -Vis

2.4.1 Definisi Spektrofotometri UV -Vis

Spektrofotometri adalah metode analitik yang didasarkan pada pengukuran penyerapan cahaya monokromatik oleh strip larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu menggunakan monokromator prismatik atau kisi difraksi dengan detektor tabung cahaya. Seperti spektrometri, spektrofotometri adalah

metode berbasis spektroskopi untuk mengukur jumlah zat. Namun lebih tepatnya pada panjang gelombang tertentu, misalnya UV (ultraviolet), tampak dan inframerah. Spektrofotometri termasuk dalam spektroskopi elektromagnetik. Alat yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Alat ini berjenis fotometer, alat yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya.

Spektrofotometer dapat mengukur intensitas sebagai fungsi warna, atau lebih tepatnya sebagai fungsi panjang gelombang. Inilah sebabnya spektrometer UV-Vis disebut spektrofotometer UV-Vis, bukan spektrometer UV-Vis. Sebenarnya, tidak salah menggunakan istilah spektrometer untuk emisi UV. Namun kurang tepat, kata spektrometer memiliki arti yang lebih luas dari spektrofotometer (Bambang, 2017).

Konsentrasi, kemurnian (rasio A_{260}/A_{280}), dan rasio absorbansi pada 260–280 nm diukur dengan Thermo Scientific NanoDrop™1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, Jerman) menggunakan 1 μL setiap sampel. Spektrum direkam untuk rentang 220–750 nm. Spektrofotometer UV-VIS adalah instrumen utama, sehingga harus dikalibrasi. Kalibrasi instrumen spektrofotometer meliputi: akurasi panjang gelombang, akurasi fotometrik, resolusi, hamburan cahaya, stabilitas baseline, kelancaran baseline, dan akurasi detektor (Irawan, 2019).

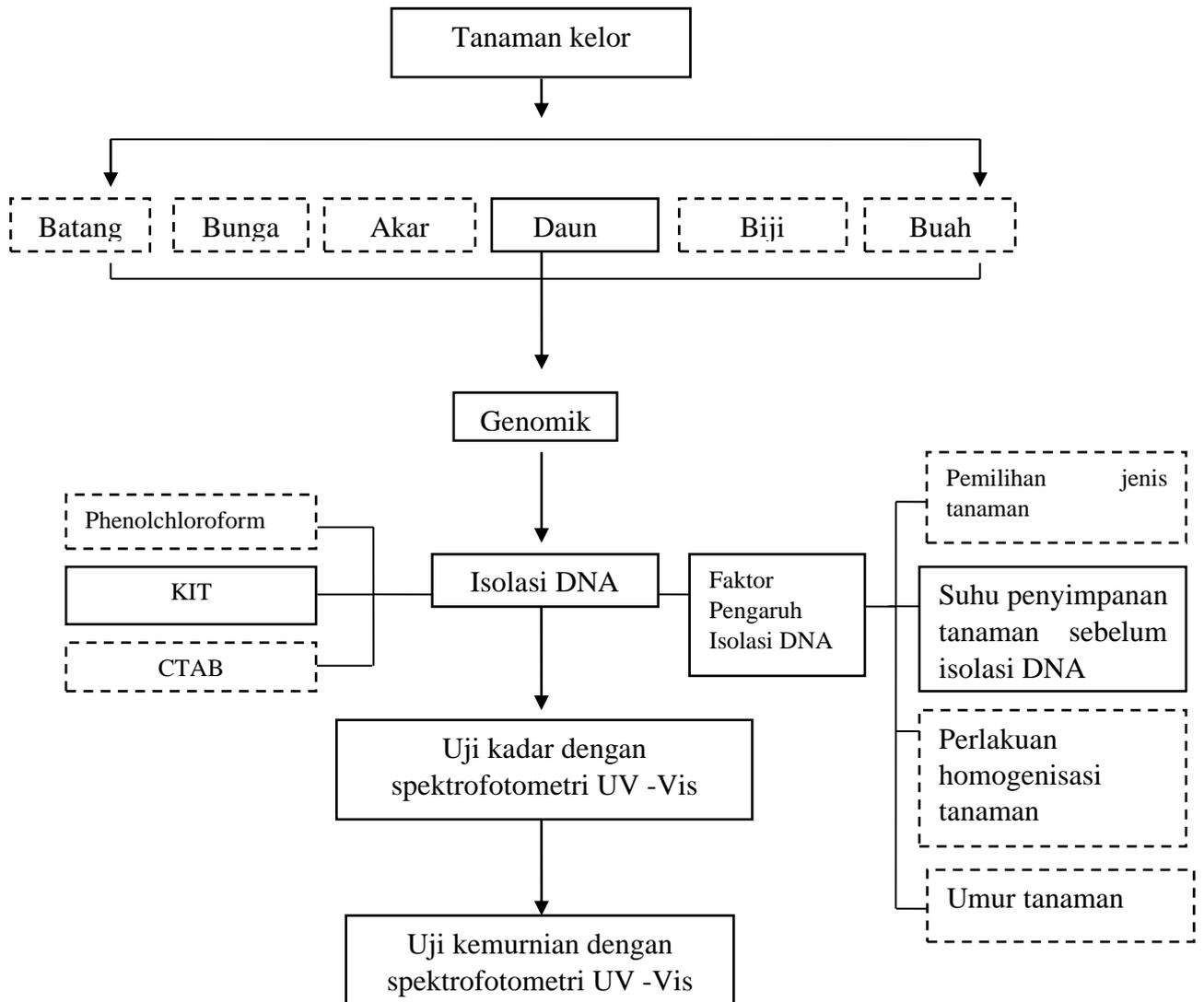
2.4.2 Mekanisme Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis bekerja saat cahaya monokromatik melalui medium (larutan), kemudian sebagian cahaya diserap (I), sebagai refleksi (I_r) dan emisi parsial (I_t). Penerapan rumus di gunakan kurva untuk membuat pengukuran kuantitatif dengan cara komparatif. Hubungan konsentrasi alat seri dengan solusi

kalibrasi untuk analisis satu elemen, kuantitatif dan kualitatif tingkat rendah dalam pengujian Secara kualitatif berdasarkan puncak yang dihasilkan oleh spektrum dari Penentuan simultan unsur-unsur tertentu pada panjang gelombang tersebut kuantifikasi berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan oleh spektrum yang ada Senyawa kompleks menurut unsur yang dianalisis. Adapun bagian bawah Pengukuran spektrofotometri yang digunakan adalah hukum Lambert-Beer yaitu, ketika cahaya monokromatik dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016)

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

□ : Yang diteliti

□ : Tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis merupakan pernyataan yang sangat singkat yang mengikuti dari dasar teori dan memberikan jawaban tentatif terhadap suatu masalah. Hipotesis dikembangkan berdasarkan teori yang relevan, logika kausal berdasarkan teori yang ada, dan penelitian sebelumnya. Dalam pembuatan hipotesis dilakukan oleh peneliti yang benar dengan menentukan tehnik dengan menguji hipotesis yang ada. Dengan demikian hipotesis yang dibutuhkan oleh peneliti yaitu kuantitatif. Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Ho: Tidak ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA

H₁: Ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, 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).

Penelitian eksperimental laboratorium ini untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap kadar dan kemurnian DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® genomic DNA purification KIT.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah area generalisasi yang terdiri dari objek atau subjek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang telah diidentifikasi oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Junaidi, 2019). Populasi dalam penelitian ini menggunakan daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) yang didapatkan dari lingkungan sekitar daerah Mojomulyo, Puger termasuk wilayah dataran rendah (Sofyani *et al.*, 2022).

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015). Sampel dalam penelitian ini adalah daun kelor muda (*Moringa oleifera Lam.*).

4.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan atribut atau karakteristik dari orang, objek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang telah diidentifikasi oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya (Nasution, 2017).

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas (*variable independent*) adalah variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel *dependen*/terikat (Sugiono, 2016). Variabel bebas pada penelitian ini adalah suhu penyimpanan sampel.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat (*variable dependent*) merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat dari adanya variabel bebas (Sugiono, 2016). Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar dan kemurnian DNA daun kelor.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi.

4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian yang dilaksanakan oleh peneliti dalam rentan waktu bulan Mei– Juni 2023.

4.6 Definisi Operasional

Menurut Sugiyono (2015) definisi operasional merupakan variabel penelitian atribut atau ciri dan nilai dari suatu objek atau kegiatan yang memiliki variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya.

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara ukur	Skala data	Hasil ukur
1.	Suhu	Suhu merupakan parameter yang mempengaruhi hasil dari metode isolasi DNA	Termometer	Setting pada suhu -20°C, -3°C, dan 10°C	Nominal	Temperatur
2.	Kadar DNA	Kadar DNA merupakan hasil yang menunjukkan kualitas maupun kuantitas baik dan kurang baik dari pengaplikasian metode isolasi DNA	Spektrofotometri UV- Vis	Menggunakan blanko ddH ₂ O dan Panjang gelombang 260 nm dan 280 nm	Rasio	Nilai Absorbansi
3.	Kemurnian DNA	Kemurnian DNA merupakan hasil yang menunjukkan keberhasilan proses ekstraksi DNA ditentukan dari tingkat kemurnian DNA	Spektrofotometri UV-Vis	Menggunakan blanko ddH ₂ O pada Panjang gelombang 260 nm dan 280 nm	Rasio	Nilai Absorbansi

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

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

4.7.2 Preparasi Sampel

Penggunaan sampel pada penelitian ini adalah daun kelor yang masih muda, sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label. Sampel daun kelor yang sudah dibekukan (*biobase*) pada suhu -20°C, dibekukan (*biobase*) suhu 3°C,

dibekukan (*polytron*) suhu 10°C selama 24 jam. Pada saat penelitian, sampel tanpa tulang ditimbang hingga 700 mg, digerus hingga halus (Retnaningati, 2021).

4.7.3 Isolasi DNA

Sampel yang sudah dipreparasi ditambahkan 700 mg sampel bubuk daun kelor *Moringa oleifera* ke dalam tabung mikrotube 1,5 mL. Selanjutnya Ditambahkan 600 μ L *Nuclei Lysis Solution*, kemudian vortex 1-3 detik. Sampel diinkubasi dengan suhu 65°C selama 15 menit, ditambahkan 3 μ L Larutan RNase dan dicampurkan pada sampel dengan cara membalik tabung 2 kali. Kemudian sampel campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit, selanjutnya Sampel dibiarkan sampai dingin selama 5 menit, setelah itu ditambahkan 200 μ L larutan *Protein Precipitation Solution*, dan vortex dengan kecepatan tinggi selama 20 detik. Selanjutnya sampel Disentrifugasi pada kecepatan 13.000 selama 3 menit. Hasil protein endapan akan membentuk pelet yang rapat. Kemudian keluarkan supernatan yang mengandung DNA dengan hati-hati dan dipindahkan ke tabung microcentrifuge 1,5 mL, yang berisi 600 μ L isopropanol. Kemudian sampel dicampurkan dengan larutan secara perlahan dengan membolak-balik sampai terbentuk untai DNA yang menyerupai benang.

Sampel disentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit pada suhu 3°C, kemudian memisahkan supernatan dengan hati-hati, dengan menambahkan 600 μ L etanol 70% dan membalikkan tabung beberapa kali untuk mencuci DNA. Setelah itu etanol dipisahkan dengan hati-hati dengan bantuan pipet pasteur, membalikkan tabung di atas kertas dan dikeringkan pelet selama 15 menit. Ditambahkan 100 μ L larutan rehidrasi DNA dengan menginkubasi pada

suhu 65°C selama 1 jam. Dicampurkan larutan secara bertahap atau rehidrasi DNA dengan menginkubasi pada ruangan suhu 4°C selama 1x24 jam. Kemudian DNA disimpan pada suhu 3 °C.

4.7.4 Pengukuran Kadar DNA

Sampel yang sudah didapatkan dilakukan pengukuran kadar dan kemurnian DNA menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Dengan cara mengambil sampel DNA sebanyak 70 µL kemudian aquabides diukur sebanyak 930 µL. sampel dimasukkan ke dalam kuvet, dan dicampurkan larutan hingga homogen. Dilakukan pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang 260 nm dan panjang gelombang 280 nm hingga $A = 0,00$. Jumlah DNA ditentukan dengan mengasumsikan bahwa $1 \text{ Abs}_{280\text{nm}} = 50 \text{ µg DNA}$. Tahap ini untuk mengetahui kemurnian DNA genom. Pengaruh suhu kadar dan kemurnian DNA diamati dengan spektrofotometri UV-Vis.

Kemudian dihitung nilai kadar dan konsentrasinya dengan menggunakan rumus (Mulyani, 2011).

Rumus:

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

Keterangan:

Faktor C = 50 µg/mL (konversi unit dari DNA untai ganda)

A₂₆₀ = Nilai absorbansi pada λ 260 nm

A₂₈₀ = Nilai selain DNA pada λ 280 nm

Abs = Absorbansi

4.7.5 Kemurnian DNA

Kemurnian DNA dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Kemurnian DNA dengan cara Dimasukkan blanko ddH₂O pada spektrofotometri kemudian tutup Kembali dan tekan power untuk mengkalibrasi, setelah mengkalibrasi blanko ddH₂O dikeluarkan dan dimasukkan sampel 70 µL ke dalam lubang kuvet yang sudah bersih. Blanko dimasukkan ke dalam alat, tekan tombol yang menunjukkan proses untuk pembacaan sampel. Untuk mengetahui kemurnian DNA dapat dilakukan dengan cara menghitung rasio absorbansi dengan rumus (Mustafa *et al.*, 2016) :

$$\text{Rasio Kemurnian DNA} = \frac{\text{Abs } 260 \text{ nm}}{\text{Abs } 280 \text{ nm}}$$

4.8 Analisa Data

Data yang dianalisis yaitu data hasil kadar dan kemurnian dengan suhu -20 °C, 3 °C, 10 °C menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Analisis data pada peneliti ini menggunakan metode uji *one way ANOVA* dengan persyaratan ($\text{sig} < 0,05$) yaitu ada perbedaan signifikan jika dalam uji normalitas dan uji homogenitas ($p > 0,05$) dalam data berdistribusi normal dan homogen (Delacre *et al.*, 2020). Metode ini digunakan untuk membandingkan antara suhu penyimpanan dengan kadar dan kemurnian DNA. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji (*Fisher*) F (Rahma, 2018). Selanjutnya dilakukan uji *post Hoc* (Payadnya & Jayantika, 2018).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi daun kelor dilakukan di Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa benar tanaman yang digunakan adalah bagian daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*). Daun kelor termasuk golongan suku Moringaceae, dengan nomer surat keterangan sebagai berikut No: 249/Lab.Bio/B/V/2023. Dan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2 Kadar DNA

Kadar DNA menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit dilakukan dengan 15 replikasi dan diuji dengan spektrofotometri UV-Vis. Kadar DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini pada suhu -20 °C dengan nilai 251,68 ng/μL, pada suhu 3 °C didapatkan nilai 154,44 ng/μL, suhu 10 °C dengan nilai 195,91 ng/μL. Nilai rata-rata kadar DNA dengan perbedaan suhu -20 °C, suhu 3 °C dan suhu 10 °C, yaitu $191,477 \pm 50,702$ ng/μL, $109,538 \pm 29,505$ ng/μL dan $165,737 \pm 20,446$ ng/μL. Hasil rerata pada pengukuran kadar DNA dapat dilihat pada tabel 5.1 sebagai berikut.

Tabel 5. 1 Hasil Kadar DNA

Replikasi	Suhu °C	A260 nm	Kadar DNA (ng/μL)	Rata-rata ± SD (ng/μL)
1	-20	0,174	124,41	
2	-20	0,239	170,885	
3	-20	0,225	160,875	191,477±50,702
4	-20	0,349	249,535	
5	-20	0,352	251,680	
1	3	0,087	62,205	
2	3	0,144	102,96	
3	3	0,216	154,44	109,538±29,505
4	3	0,156	111,54	
5	3	0,163	116,545	
1	10	0,274	195,91	
2	10	0,231	165,165	
3	10	0,252	180,18	165,737±20,446
4	10	0,202	144,43	
5	10	0,200	143,000	

Keterangan:

SD : Standar Deviasi

Selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

Tabel 5. 2 Uji Normalitas

Normalitas				
	Penyimpanan suhu	Shapiro Wilk		
		Statistic	df	Sig
Kadar DNA	Suhu -20 °C	0,819	5	0,114
	Suhu 3 °C	0,937	5	0,648
	Suhu 10 °C	0,788	5	0,065

Berdasarkan tabel 5.2 interpretasi uji normalitas pada kadar DNA tersebut memperoleh nilai dengan signifikan $p > 0,05$ yang artinya berdistribusi normal.

Hasil menunjukkan kadar DNA pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal dengan sig (p)=0,114, sig $p>0,05$, sedangkan pada suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal yaitu $p=0,648$, pada suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal yaitu $p=0,065$. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas.

Tabel 5. 3 Uji Homogenitas

Homogenitas	Levene statistic	df1	df2	Sig
Based on trimmed mean	2,330	2	12	0,140

Berdasarkan tabel 5.3 interpretasi uji homogenitas pada kadar DNA tersebut memperoleh nilai dengan signifikan $p>0,05$ yang artinya berdistribusi normal. Hasil homogenitas sampel dengan kadar DNA menunjukkan distribusi homogen dengan (sig) p: kadar DNA 0,140, sig homogen $p>0,05$. Sehingga data kadar DNA berdistribusi homogen.

Tabel 5. 4 Uji One Way Anova

ANOVA					
Kadar DNA	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	41303553732 .933	2	20651776866 .467	5.635	0.019
Within Groups	43980274826 .800	12	3665022902. 233		
Total	85283828559 .733	14			

Berdasarkan hasil analisis uji *One Way ANOVA* pada tabel 5.4 menunjukkan bahwa kadar DNA mempunyai nilai sig. 0,019 sig $p<0,05$. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh suhu terhadap semua kelompok yaitu pengaruh suhu.

Tabel 5. 5 Hasil Data LSD

(I) Perbedaan suhu		Sig
Suhu -20 °C	Suhu 3	0.024
	Suhu 10	0.008
Suhu 3 °C	Suhu -20	0.024
	Suhu 10	0.587
Suhu 10 °C	Suhu -20	0.008
	Suhu 3	0.587

Dapat disimpulkan dari data LSD terdapat pengaruh suhu terhadap kadar DNA pada suhu -20 °C dan suhu 10 °C.

5.3 Kemurnian DNA

Tabel 5. 6 Hasil kemurnian DNA

Replikasi	Suhu °C	Abs 260 nm	A280 nm	Hasil Kemurnian	Rata-rata ± SD
1	-20	0,174	0,086	2,023	1,9334±0,087
2	-20	0,239	0,117	2,042	
3	-20	0,225	0,117	1,923	
4	-20	0,349	0,191	1,827	
5	-20	0,352	0,190	1,852	
1	3	0,087	0,036	2,416	2,153±0,200
2	3	0,144	0,066	2,181	
3	3	0,216	0,120	1,800	
4	3	0,156	0,073	2,136	
5	3	0,163	0,073	2,232	
1	10	0,274	0,150	1,826	1,9108±0,062
2	10	0,231	0,121	1,909	
3	10	0,252	0,133	1,894	
4	10	0,202	0,106	1,905	
5	10	0,200	0,099	2,020	

Kemurnian DNA dapat dilihat dengan skala rasio dengan absorbansi (A_{260}/A_{280}). Kemurnian DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini pada suhu -20 °C berkisaran antara 1,8- 2,0, pada suhu 3 °C dengan nilai 1,8- 2,4, sedangkan suhu 10 °C dengan nilai 1,8-1,9. Nilai rata- rata kemurnian DNA dengan pengaruh

suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, yaitu $1,9334\pm 0,087$, $2,153\pm 0,200$ dan $1,9108\pm 0,062$.

Selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

Tabel 5. 7 Uji Normalitas

Normalitas				
Kemurnian DNA	Perbedaan suhu	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
	Suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	0.822	5	0.121
	Suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$	0.830	5	0.138
	Suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$	0.947	5	0.717

Berdasarkan tabel 5.7 interpretasi uji normalitas pada kemurnian DNA tersebut memperoleh nilai dengan signifikan $p > 0,05$ yang artinya berdistribusi normal. Hasil menunjukkan kemurnian DNA pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal dengan sig (p)=0,121, sig $p > 0,05$, sedangkan pada suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal yaitu $p = 0,138$, pada suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ berdistribusi normal yaitu $p = 0,717$. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas.

Tabel 5. 8 Uji Homogenitas

Homogenitas	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on trimmed mean	1,863	2	12	0,197

Berdasarkan tabel 5.8 interpretasi uji homogenitas pada kemurnian DNA tersebut memperoleh nilai dengan signifikan $p > 0,05$ yang artinya berdistribusi normal. Hasil homogenitas sampel dengan kemurnian DNA menunjukkan distribusi homogen dengan (sig) p: kemurnian DNA 0,197, sig homogen $p > 0,05$. Sehingga data kemurnian DNA berdistribusi homogen.

Tabel 5. 9 Uji One Way Anova

ANOVA					
Replikasi Kemurnian					
	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	3,576	2	1,788	10,143	0,003
<i>Within Groups</i>	2,116	12	0,176		
Total	5,692	14			

Pada uji *one way anova* diperoleh dengan nilai signifikan $p=0,003$ sig $p<0,05$ yang artinya terdapat pengaruh suhu signifikan.

Tabel 5. 10 Hasil LSD Kemurnian

(I) Perbedaan suhu		Sig
Suhu -20 °C	Suhu 3 °C	0,021
	Suhu 10 °C	0,001
Suhu 3 °C	Suhu 10 °C	0,021
	Suhu -20 °C	0,095
Suhu 10 °C	Suhu 3 °C	0,001
	Suhu -20 °C	0,095

Nilai kemurnian DNA menggunakan uji *one way anova* didapatkan hasil nilai *Least Significant Difference* (LSD) pada suhu -20 °C terhadap suhu 3 °C adalah 0,001 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh suhu. Hasil LSD suhu -20 °C terhadap suhu 10 °C adalah 0.095 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh suhu. Sedangkan nilai LSD pada suhu 3 °C terdapat pengaruh suhu terhadap suhu 10 °C adalah 0,021 $< 0,05$, suhu 3 °C terdapat pengaruh suhu pada suhu -20 °C adalah 0.001 $< 0,05$. Hasil LSD pada suhu 10 °C terdapat pengaruh suhu dengan suhu 3°C adalah 0.021

$<0,05$, dan suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ tidak terdapat pengaruh suhu terhadap suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ adalah $0,095 > 0,05$.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Pengukuran Kadar DNA

Hasil kadar DNA diperoleh dengan nilai rata-rata dengan perbedaan suhu penyimpanan -20 °C, suhu 3 °C dan suhu 10 °C. Pada suhu -20 °C didapatkan nilai rata-rata yaitu $191,477 \pm 50,702$ ng/ μ L, pada suhu 3 °C didapatkan nilai rata-rata $109,538 \pm 29,505$ ng/ μ L dan suhu 10 °C yaitu $165,737 \pm 20,446$ ng/ μ L. Hasil kadar DNA pada suhu -20 °C replikasi ke 4 lebih tinggi disebabkan adanya faktor yang berpengaruh karena pada saat presipitasi pengambilan supernatan terjadi pengendapan DNA (Emilia, 2021). Menurut Retnaningati (2020) diperoleh nilai kadar DNA dengan nilai 2707,6 ng/ μ L, dimana hasil dari kadar DNA lebih tinggi dibandingkan penelitian yang dilakukan. Hal tersebut dikarenakan pengaruh lamanya waktu inkubasi.

Pada penelitian ini kadar DNA didapatkan hasil yang rendah dibandingkan dengan suhu 10 °C karena adanya faktor lama penyimpanan pada suhu -20 °C selama 24 jam. Sehingga dapat dipengaruhi oleh faktor pada saat pengambilan supernatan yang tidak maksimal sehingga DNA genom banyak yang terbuang. Dapat dinyatakan bahwa semakin lama penyimpanan suhu maka terjadi penurunan kadar DNA (Toetik Koesbardiati, 2015).

Kadar DNA pada perlakuan ini menggunakan suhu penyimpanan sampel yang digunakan sebagai pengganti nitrogen cair dalam teknik penggerusan yaitu daun yang didinginkan terlebih dahulu (Ferniah, 2013). Proses isolasi DNA tanaman biasanya menyarankan menggunakan nitrogen cair selama penggerusan

sampel pada jaringan tanaman. Nitrogen cair berfungsi untuk membekukan jaringan sampel sehingga lebih mudah untuk melakukan lisis sel secara mekanik, yaitu penggerusan. Namun kelebihan dari nitrogen cair ini harganya cukup mahal sehingga membutuhkan ruang pendingin dan tangki khusus untuk penyimpanan nitrogen cair. Metode yang lain, dengan perlakuan pendinginan sampel daun tanaman, mengakibatkan perubahan warna daun, sehingga memudahkan pelisisan sel secara mekanik. Perlakuan ini dapat meningkatkan jumlah perolehan hasil isolasi DNA dari sampel daun (Retnaningati, 2020).

Kadar DNA adalah faktor penting dalam analisis DNA terutama terhadap keberhasilan amplifikasi pada sampel-sampel DNA. Optimasi DNA yang ditandai dengan adanya Panjang gelombang 260 nm yang menunjukkan bahwa primer mampu mengamplifikasi gen yang dituju untuk tahapan proses optimasi DNA (Oktavianti dkk., 2019). Kesesuaian optimasi kelayakan DNA secara fisik ditunjukkan dengan ukuran dan panjang gelombang DNA. Pengukuran kadar DNA dilakukan dengan Spektrofotometer UV-Vis (Balladona dkk., 2016).

Salah satu penyebab yang mempengaruhi konsentrasi DNA jaringan daun yang digunakan untuk isolasi DNA juga berpengaruh terhadap jumlah DNA yang didapatkan, secara umum daun muda cenderung digunakan dalam isolasi DNA karena mudah dalam mendapatkan DNA dengan kadar yang tinggi. Daun muda mempunyai aktifitas pembelahan yang tinggi, pada proses pembelahan DNA akan mengalami replikasi, sehingga jumlah DNA akan mengganda dengan demikian konsentrasi DNA yang ada pada daun muda relatif tinggi (Retnaningati, 2020). Kadar DNA pada sampel yang didinginkan lebih tinggi pada sampel yang

dibekukan. Pembekuan jaringan berperan untuk menghindari degradasi DNA (Sari, 2014).

Analisis pengukuran kadar DNA dilakukan dengan program statistik perangkat lunak IBM SPSS statistik 26, yang dirancang agar lebih mudah dan cepat. 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).

Uji normalitas digunakan untuk menguji suatu data yang berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas merupakan salah satu persyaratan sebelum melakukan uji hipotesis. Pada pembacaan uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk* menggunakan spss statistik. Jika nilai signifikan yang diperoleh $<0,05$ ($p>0,05$), maka data dikatakan berdistribusi normal. Dan jika angka signifikan yang diperoleh $p<0,05$, maka data tidak berdistribusi normal (Jayantika, 2018)

Setelah data memenuhi distribusi normal, maka dilakukan uji homogenitas yang dilakukan dengan tujuan untuk menguji kesamaan 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.

Kemudian dilakukan uji *one way anova* yang bertujuan untuk membandingkan empat kelompok kategori untuk menentukan apakah ada perbedaan diantara keempat 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).

Data kadar DNA pada daun kelor yang diuji normalitas dengan menggunakan *Shapiro wilk*, suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan nilai (sig) pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ yaitu $0,114 > 0,05$, pada suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan nilai (sig) $0,648 > 0,05$, sedangkan suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ didapatkan dengan nilai (sig) $0,065 > 0,05$ dapat diuraikan berdasarkan data yang didapatkan yaitu berdistribusi normal.

Selanjutnya melakukan uji homogenitas dengan hasil yang didapatkan yaitu dengan sig yaitu $0,140 > 0,05$ maka dari data tersebut dapat dikatakan bahwa semua data dari suhu yang berbeda dapat dikatakan homogen. kemudian dilanjutkan dengan uji *one way anova* dari uji tersebut, dan didapatkan nilai sig $(0,019) < 0,05$ dari uji tersebut dapat diuraikan bahwa dari data kadar DNA pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\text{ }^{\circ}\text{C}$, dan $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ dapat dikatakan memiliki pengaruh terhadap penyimpanan suhu. sehingga dapat diuraikan bahwa hasil uji analisis *one way anova* yaitu sig $(0,019) < 0,05$ dapat di baca H_1 diterima sehingga ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA, sedangkan H_0 ditolak sehingga tidak ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA.

Analisis Data kadar DNA yang di uji menggunakan Uji LSD adalah terdapat perbedaan kadar DNA yang signifikan antara suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan nilai $0,008 < 0,05$. Suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Dapat diuraikan bahwa pada uji LSD menunjukkan perbedaan signifikan $0,024 < 0,05$, suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ terdapat perbedaan kadar DNA yang signifikan dengan nilai $0,008 < 0,05$. Ketiga suhu ada pengaruh suhu yang artinya penyimpanan suhu yang berbeda-beda yang

mempengaruhi kadar DNA daun kelor. Ada perbedaan signifikan hubungannya dengan suhu yang rendah terdapat pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ sehingga kadar DNA yang didapatkan semakin tinggi. Jika suhu terlalu tinggi dapat merusak DNA, jika suhu terlalu rendah akan mengakibatkan membran sel tidak hancur (Emilia, 2021).

6.2 Kemurnian DNA

Menurut Murtiyaningsih (2017) kemurnian DNA dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Sehingga dapat digunakan untuk mengetahui kemurnian DNA hasil isolasi DNA. kemurnian DNA dapat dihitung dengan panjang gelombang $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$.

Berdasarkan penelitian ini didapatkan nilai rata-rata kemurnian DNA dengan hasil sampel pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ $1,9334\pm 0,087$, sedangkan suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ didapatkan nilai kemurnian $2,153\pm 0,200$, selanjutnya suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ didapatkan nilai kemurnian $1,9108\pm 0,062$. Berdasarkan hasil dari ketiga suhu tersebut memiliki kemurnian yang mencukupi atau memenuhi syarat. Hasil kemurnian dapat dikatakan murni jika nilai rasio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ yaitu $1,8-2,0$. Jika nilai rasio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ kurang dari $1,8$ dapat dikatakan bahwa kemurnian DNA yang dihasilkan terkontaminasi seperti protein/fenol dan pelarut yang digunakan terlalu banyak. Sedangkan jika nilai rasio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ lebih dari $2,0$ maka kemurnian DNA yang dihasilkan menunjukkan terkontaminasi oleh RNA (Sari, 2014).

Pada penelitian ini dari hasil kemurnian DNA dapat disimpulkan bahwa pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan nilai $2,0$ dapat dikatakan murni atau memenuhi syarat, suhu $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan nilai $2,4$ yang artinya kurang murni dengan adanya terkontaminasi RNA yang disebabkan dengan adanya sisa-sisa etanol pada saat pengeringan yang

tidak sempurna, faktor lain yang menyebabkan DNA tidak murni adalah adanya sisa kandungan metabolit sekunder pada organ tanaman yang diekstrak (Fatchiyah, 2009). Suhu 10 °C didapatkan nilai 2,0 yang artinya murni atau memenuhi syarat. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Retnaningati (2020) dengan suhu -20 °C selama 10 jam yang diperoleh kemurnian DNA dengan nilai 1,93. Pada penelitian ini kemurnian DNA didapatkan hasil yang sudah memenuhi persyaratan pada suhu penyimpanan -20 °C selama 24 jam dengan nilai $1,9334 \pm 859$.

Data kemurnian DNA pada daun kelor yang diuji normalitas dengan menggunakan *Shapiro wilk* adalah suhu -20 °C, 3 °C, 10 °C dengan nilai (sig) pada suhu -20 °C yaitu $0,121 > 0,05$, pada suhu 3 °C dengan nilai (sig) $0,138 > 0,05$, sedangkan suhu 10 °C didapatkan dengan nilai (sig) $0,717 > 0,05$ dapat diuraikan berdasarkan data yang didapatkan yaitu berdistribusi normal.

Selanjutnya melakukan uji homogenitas dengan hasil yang didapatkan yaitu dengan (sig) yaitu $0,197 > 0,05$ maka dari data tersebut dapat dikatakan bahwa semua data dari suhu yang berbeda dapat dikatakan homogen.

kemudian dilanjutkan dengan uji *one way anova* dari uji tersebut, dan didapatkan nilai sig $(0,003) < 0,05$ dari uji tersebut dapat diuraikan bahwa dari data kemurnian DNA pada suhu -20 °C, 3 °C, dan 10 °C dapat dikatakan memiliki pengaruh terhadap suhu penyimpanan. Maka dapat diuraikan bahwa hasil uji analisis *one way anova* yaitu sig $(0,003) < 0,05$ dapat di baca H_1 diterima sehingga ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA, sedangkan H_0

ditolak sehingga tidak ada pengaruh suhu penyimpanan sampel terhadap isolasi DNA.

Setelah didapatkan hasil uji LSD yang menunjukkan perbedaan signifikan terhadap Suhu 3 °C yaitu berbeda signifikan dengan kelompok suhu 10 °C dan -20 °C. Suhu -20 °C terhadap suhu 3 °C adalah 0,001 sehingga $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan. Hasil LSD suhu -20 °C terhadap suhu 10 °C adalah 0,095 sehingga $p > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa tidak memiliki perbedaan signifikan. Sedangkan nilai LSD pada suhu 3 °C terdapat perbedaan signifikan terhadap suhu 10 °C adalah 0,021 $< 0,05$, suhu 3 °C terdapat perbedaan signifikan pada suhu -20 °C adalah 0,001 $< 0,05$. Hasil LSD pada suhu 10 °C terdapat perbedaan signifikan dengan suhu 3°C adalah 0,021 $< 0,05$, dan suhu 10 °C tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap suhu -20 °C adalah 0,095 $> 0,05$. Ada perbedaan signifikan, terhadap Pengaruh suhu penyimpanan pada suhu 3 °C terdapat kemurnian yang tinggi yang menyebabkan isolasi DNA tidak murni sehingga menyebabkan adanya pengotor yaitu RNA (Fatchiyah, 2009).

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh suhu penyimpanan terhadap kadar dan kemurnian DNA daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit, maka dapat disimpulkan bahwa:

- 1.) Kadar DNA dengan suhu penyimpanan sampel pada daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit diperoleh pada suhu -20 °C didapatkan kadar DNA sebesar 191,477±687 ng/μL, suhu 3 °C didapatkan kadar DNA sebesar 109,538±989 ng/μL, dan suhu 10 °C didapatkan kadar DNA sebesar 165,737±859 ng/μL.
- 2.) Kemurnian DNA dengan suhu penyimpanan sampel pada daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit diperoleh pada suhu -20 °C didapatkan kemurnian DNA sebesar 1,9334±859, suhu 3 °C didapatkan kemurnian DNA sebesar 2,153±224, dan suhu 10 °C didapatkan kemurnian DNA sebesar 1,9108±269.
- 3.) Suhu penyimpanan pada daun kelor ada pengaruh signifikan terhadap kadar dan kemurnian DNA dengan hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai sig < 0,05 yang artinya terdapat pengaruh yang signifikan.
- 4.) Suhu optimum untuk penyimpanan sampel daun kelor (*Moringa oleifera Lam.*) menggunakan Wizard® Genomic DNA Purification Kit adalah suhu

-20 °C dengan hasil kadar DNA sebesar $191,477 \pm 687$ ng/ μ L, dan hasil kemurnian DNA sebesar $1,9334 \pm 859$.

7.2 Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi DNA menggunakan metode seperti RAPD yaitu salah satu teknik yang paling banyak digunakan dalam perkembangan penanda molekuler dan kelibihanya mampu menghasilkan karakter yang relative tidak terbatas jumlahnya, bahan- bahan yang digunakan relatif murah, mudah dalam preparasi dan memberikan hasil lebih cepat.
- 2) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi DNA menggunakan sampel yang lain seperti daun sirih, kemangi, daun sirih cina. Jika menggunakan sampel yang sama bisa mengambil sampel yang sama bisa mengambil yang tua atau yang segar. Daun yang tua yang dijadikan sebagai sampel isolasi DNA banyak mengandung senyawa polisakarida dan polifenol. Sedangkan daun yang muda lebih memudahkan dalam penggerusan karena memiliki tekstur yang lebih lunak.
- 3) Perlu dilakukan optimasi kadar yang berbeda menggunakan elektroforesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Latif, A., & Osman, G. (2017). Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. *Plant Methods*, 13(1), 1–9.
- Adhiyanto, C., & Puspitaningrum, R. (2018). Genetika molekuler dan aplikasinya.
- Adriany, D. T., Bakri, A. A., & Bungalim, M. I. (2020). Perbandingan Metode Isolasi DNA Terhadap Nilai Kemurnian DNA untuk Pengujian White Spot Syndrom Virus (WSSV) pada Lobster Bambu (*Panulirus versicolor*). *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, (7).
- Alami, R. R. 2022. Determinasi Kekerabatan Genetik Berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Dari Tanaman Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Yang Berpotensi Sebagai Inhibitor A-Glukosidase= Determination Of The Genetic Kinship Based On Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) In Moringa Leaves (*moringa oleifera lam.*) potential as inhibitor of α -Glukosidase. Program Magister Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Aminah, S., Ramdhan, T., & Yanis, M. 2015. Kandungan nutrisi dan sifat fungsional tanaman kelor (*Moringa oleifera Lam.*). *Buletin pertanian perkotaan*, 5(2), 35-44.
- Amirullah. 2015. Populasi dan Sampel, Malang: Bayumedia publishing Malang
- Anam, K., Cahyadi, W., Azmi, I., Senjarini, K., & Oktarianti, R. 2021. Analisis Hasil Elektroforesis DNA dengan Image Processing Menggunakan Metode Gaussian Filter. *IJEIS (Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems)*, 11(1), 37.
- Artati, D. (2013). Sensitivitas gel red sebagai pewarna DNA pada gel elektroforesis. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 11(1), 11–14.
- 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.
- Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. 2021. Optimasi Suhu Annealing untuk Amplifikasi Dna Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 18(1), 44-54.
- 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.
- Balladona, F. K., Saptadi, D., & Soegianto, A. 2018. Konfirmasi Gen Yang Mencirikan Ekspresi Antosianin Pada Buncis (*Phaseolus Vulgaris L.*). *Plantropica: Journal of Agricultural Science*, 1(2).
- Bambang Yudono, (2017). Buku spektrometri
- Britany, M. N., & Sumarni, L. 2021. Pembuatan Teh Herbal Dari Daun Kelor Untuk Meningkatkan Daya Tahan Tubuh Selama Pandemi Covid-19 Di

- Kecamatan Limo. In *Prosiding Seminar Nasional Pengabdian Masyarakat LPPM UMJ* (1), 1, 1-6.
- Delacre, M., Leys, C., Mora, Y. L., & Lakens, D. (2020). Taking parametric assumptions seriously: Arguments for the use of welch's f-test instead of the classical f-test in one-way ANOVA. *International Review of Social Psychology*, 32(1), 1–12.
- Dewi, E.S. 2017. Buku Ajar Genetika Tanaman. Fakultas Pertanian. Universitas Malikulssaleh.
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 10-21070.
- Emilia, E., & Anhar, A. (2021). Optimalisasi Metode Ekstraksi DNA Daun, Kulit Kayu dan Kayu Pinus merkusii. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 6(4), 766–778. <https://doi.org/10.17969/jimfp.v6i4.18233>
- Faatih, M. 2009. Isolasi dan digesti DNA kromosom. *J Penelitian Sains Dan Teknologi*, 20(1), 61–67.
- Fabiana Meijon Fadul. 2019. Isolasi DNA Daun Terung Asam (*Solanum ferox L.*) Menggunakan Genomic DNA Mini KIT (*Plant*) Geneaid 1–5.
- Faradisa, A. M., Aini, N., & Risandiansyah, R. 2021. Perbandingan Metode Isolasi DNA Filter Based KIT, *Alkaline Lysis*, Dan *Heat Treatment* Berdasarkan Kuantitas Dan Kualitas Pada *Candida Albicans*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*, 8(2), 1-8.
- Hidayat, R. 2015. Perbandingan Metode KIT Komersial Dan SDS Untuk Isolasi DNA Babi Dan DNA Sapi Dari Simulasi Cangkang Kapsul Keras Untuk Deteksi Kehalalan Menggunakan Real-Time PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ilsan, N. A., Nurfajriah, S., & Inggriani, M. 2018. Aktivitas inhibitor alfa glukosidase dari aktinomiset asal phylloplane kelor (*Moringa oleifera*). *Bioma*, 14(2), 49-59.
- Knebelsberger, T., & Stöger, I. 2012. DNA extraction, preservation, and amplification. In *DNA Barcodes* (pp. 311-338). Humana Press, Totowa, NJ.
- Kristianto Nugroho, D. S., Tasma, I. M., & Lestari, P. Ekstraksi DNA Genomik: Tahap Kritis dalam Kegiatan Analisis Molekuler Tanaman. *Jurnal AgroBiogen*, 18(1), 33-44.
- Kusumadewi, A., Kusuma, S. E., & Yudianto, A. 2012. Analisis DNA Jaringan Lunak Manusia yang Terpapar Formalin dalam Interval Waktu 1 Bulan Selama 6 Bulan pada Lokus D13S317 dengan Metode (*The Analyze of Human DNA Soft Tissue that Contaminated Formalin During 1 Month and 6 Month at Locus D13S317 using STR-*. *Jbp*, 14(2), 115–121.
- Kurniawan, H., Sukmawaty, S., Ansar, A., Murad, M., Sabani, R., Yuniarto, K., & Khalil, F. I. 2020. Pengolahan Daun Kelor di Desa Sigar Penjaln Kecamatan Tanjung Kabupaten Lombok Utara. *Jurnal Ilmiah Abdi Mas TPB Unram*, 2(2)

- Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T. 2012. Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex cofassus Reinw*) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J Sains & Teknologi*, 12(3), 265-276.
- Laras, L. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Dalam Pengendalian Ulat Krop (*Crocidolomia Pavonana F.*) Pada Tanaman Kubis (*Brassica Oleracea L. Var. Capitata*) (Sebagai Sumber Belajar Peserta Didik Materi Pencemaran Lingkungan Sma Kelas X Semester Ganjil). Program Sarjana Pendidikan Biologi UIN Raden Intan Lampung. Lampung.
- Maftuchah, Winaya, A., dan Zainuddin, A. 2014. Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler. Penerbit Dee Publish. Yogyakarta
- Marhaeni, L. S. 2021. Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Sumber Pangan Fungsional Dan Antioksidan. *Agrisia-Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 13(2).
- Metabolites, S. 2022. Review Artikel: Metode Ekstraksi DNA Genom untuk Tanaman Tinggi Kandungan Polisakarida dan Metabolit Sekunder Article Review: Genomic DNA Extraction Method for Plants with High Levels of Polysaccharides and Secondary Metabolites. 5(November), 118–129.
- Masjkur, I. N. 2011. Analisis Pengaruh Waktu Dan Pencucian Deterjen Terhadap Dna Bercak Cairan Semen Pada Lokus Fga, D21s11 Dan Dys19 Dengan Metode Str Pcr Penelitian Eksperimental Laboratoris (Doctoral Dissertation, Universitas Airlangga).
- Mukrimaa, S. S., Nurdyansyah, Fahyuni, E. F., Yulia Citra, A. Taniredja, T., Faridli, E. M., & Harmianto, S. (2016). No Title. In *Jurnal Penelitian Pendidikan Guru Sekolah Dasar* (Vol. 6, Issue August).
- Nasution, S. 2017. Variabel penelitian. *Jurnal Raudhah*, 5(2).
- 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, H. (2017). Isolasi DNA genom dan identifikasi kekerabatan genetik nanas menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorfic DNA). *Agritrop*, 15(1), 84–93.
- Nurafni, I. 2021. Isolasi DNA Gelam (*Melaleuca leucadendra Linn.*) Menggunakan Genomik DNA Mini Kit (*Plant*) Geneaid. Program Sarjana Biologi Universitas Riau. Riau.
- Oktavianti, R. 2019. The Application Of PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Using Specific Primer To Detect Chillies Drought Tolerant. *JURNAL Agronomi Tanaman Tropika (JUATIKA)*, 1(2), 49-66.
- Octavia, D., Mukaromah, A. S., Martiansyah, I., Mimin, M., Ma'mun, S., & Rukmanto, H. 2021. Isolasi DNA tumbuhan hasil eksplorasi di Nusakambangan dengan metode KIT di Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* 7(1), 291-299.
- Pangesti, N. I. O., Fatiqin, A., & Erika, P. 2020. Perbandingan Antara Kualitas DNA Daun Menggunakan Metode KIT (Promega) dan Metode Manual. In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan*, (3)1, 411-415.

- Palupi, R., & Prasetya, A. E. (2022). Pengaruh Implementasi Content Management System Terhadap Kecepatan Kinerja Menggunakan One Way Anova. *Jurnal Ilmiah Informatika*, 10(01), 74–79. <https://doi.org/10.33884/jif.v10i01.4445>
- Purba, E. C. 2020. Kelor (*Moringa oleifera Lam.*): Pemanfaatan Dan Bioaktivitas. *Pro-Life*, 7(1), 1–12.
- Zapino, T., & Fitri, C. (2022). *Kamus Nomenklatur Flora & Fauna*. Bumi Aksara.
- Rakhmad, A. A. N., Kurniawan, D. T., Parahiyanti, C. R., & Firmansyah, R. 2022. Pelatihan Branding Dan Strategi E-Marketing Sebagai Upaya Meningkatkan Efektivitas Pemasaran Produk Olahan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Desa Wonorejo Kabupaten Malang. *Jompa Abdi: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(4), 94-101.
- Rahmadani, P., & Fitmawati. 2022. Isolasi DNA Daun Mangga Kasturi (*Mangifera Casturi K.*) Menggunakan Genomic DNA Mini KIT (Plant) Geneaid. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM)*, 1-6
- Retnaningati, D. 2021. Optimasi Metode Ekstraksi DNA pada Melon (*Cucumis melo L.*) Berdasarkan Suhu, Lama Inkubasi, dan Kondisi Daun. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 5(2), 109–114.
- Restu, M. (2010). Keragaman Genetik Lima Provenansi Eboni (*Diospyros celebica Bakh*) Untuk Keperluan Pemuliaan Pohon dan Konservasi Genetik. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Rizko, N., Kusumaningrum, H. P., Siti, R. F., Pujiyanto, S., Erfianti, T., Mawarni, S. N., Rahayu, H. T., & Khairunnisa, D. (2020). Isolasi DNA Daun Jeruk Bali Merah (*Citrus maxima Merr.*) dengan Modifikasi Metode Doyle and Doyle. *Berkala Bioteknologi*, 3(2), 1–7.
- Rosen, A., Trauer, T., Hadzi-Pavlovic, D., Parker, G., Patton, J. R., Cronin, M. E., Bassett, D. S., Koppel, A. E., Zimpher, N. L., Thurlings, M., Evers, A. T., Vermeulen, M., Obanya, P., Avsec, S., Nurzarina Amran, Liu, S. H., Petko, D., Aesaert, K., Van Braak, J., ... Brown, N. 2015. Analisis variasi genetik beberapa varietas mangga (*Mangifera indica L*) berdasarkan RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) dan penanda molekuler gen PSY (*Phytoene synthase*) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). *Education*, 12(1), 1–17.
- Sari, S. kurniama, Mazieda, muthia naila, Listyorini, D., & Sulasmi, E. sri. (2014). Optimization Of Dna Isolation And Purification Technique From Chili Pepper (*Capsicum frutescens*) Using Genomic DNA Mini Kit (Plant) Geneaid. *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 65–70.
- Sadikin, M. I., Swandari, T., & Wilisiani, F. 2021. Optimasi Protokol Ekstraksi DNA Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis Jacq.*) pada Umur Tanaman yang Berbeda. *In Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS* 5(1), 1379-1389.
- Sabrina, Suhaemi, Z., & Hidayati, S. G. 2022. Intensitas dan presentase Keberhasilan Isolasi DNA Darah Itik Lokal Sumatera Barat pada Lama Inkubasi Lysis Sel Yang Berbeda. *Jurnal Inspirasi Peternakan*, 2(2), 293-298.

- Seprianto, S., Saraswati, H., Wahyuni, F. D., Novianti, T., Nora, A., Naroeni, A., & Handayani, P. 2022. Workshop Isolasi DNA Dan Pengenalan Alat Laboratorium Bioteknologi Bagi Guru Biologi SMA/MA Se Jakarta. *J-ABDI: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 2(3), 4503-4514.
- Sofyani, W. O. W., Sifatu, W. O., Hasniah, H., Hartini, H., & Israwati, I. (2022). Budidaya Tanaman Kelor (*Moringa oleifera L*) di Masyarakat Wolio. *Jurnal Agrimanex: Agribusiness, Rural Management, and Development Extension*, 2(2), 165–174
- Sophian, A., & Syukur, A. (2021). Analysis of Purity and Concentration of Isolated DNA in Making Raw DNA of Rat Species: Analysis of Purity and Concentration of Isolated DNA in Making Raw DNA of Rat Species. *Eruditio: Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 1(2), 1-5.
- Sundari, S., & Priadi, B. (2019). Teknik isolasi dan elektroforesis DNA ikan tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), 87–90. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla/article/view/8608>
- Syafaruddin, S., Randriani, E., & Santoso, T. J. 2011. Efektivitas dan efisiensi teknik isolasi dan purifikasi DNA pada jambu mete. *Journal of Industrial and Beverage Crops*, 2(2), 141601.
- Toetik Koesbardiati, A. S. A. Y. (2015). Pengaruh Lama Paparan Suhu Kamar Terhadap Kualitas DNA pada Pemeriksaan SWAB Earphone dalam Penentuan Jenis Kelamin. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 17(1), 33. <https://doi.org/10.20473/jbp.v17i1.2015.33-45>
- Triani, N. 2020. Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan Menggunakan Metode CTAB. *F. Saintek Unira Malang*, 3(2), 221–226.
- Ula, K., Hayati, A., & Zayadi, H. 2020. Eksplorasi Pengetahuan Masyarakat Pandalungan Terhadap Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) Di Kecamatan Prigen Kabupaten Pasuruan. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, (1)2, 47-51.
- Wahyuni, F. 2011. Biologi Molekuler. Regulasi Ekspresi Gen, 1–24.
- Wulandari, H., Novitaroh, A., Naili, Z., Adelifa, S., & Lya, M. 2018. Kolor Ijo (*Cookies Daun Kelor Inuk Joss*) sebagai pemanfaatan daun kelor yang kaya akan kandungan gizi. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*.
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Badan Tenaga Nuklir Nasional*, 17, 22–33.

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 : 249/Lab.Bio/B/V/2023

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

Nama : Putri Puji Lestari
NIM : 19040103
Prodi, PT : SI Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

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 Nur 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. Isolasi DNA



Proses Penggerusan Sampel



Proses Penimbangan Sampel



Proses Penyimpanan Sampel



Proses pemberian larutan Nuclei Lysis Solution tujuan untuk menghancurkan membran nucleus



Proses Vortex
untuk
membasahi
jaringan



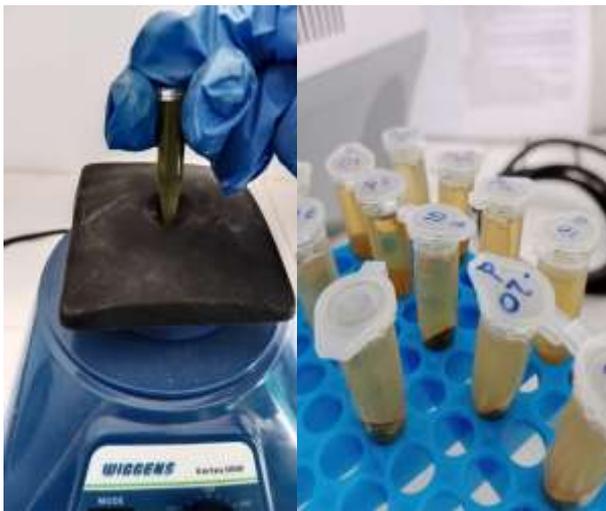
Proses inkubasi
pada suhu 65°C
selama 15
menit



Pemberian
larutan RNase
dan inkubasi
pada suhu 37°C



Pemberian
Protein
Precipitation
Solution dan
vortex selama
20 menit



Proses
sentrifuge



Proses
pengeluaran
supernatan dan
pemberian
isopropanol



Proses Sentrifus



Pembuangan
supernatan dan
pemberian
etanol 70 %



Mengeringkan
pelet

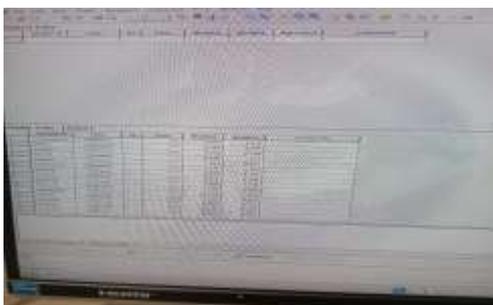


Pemberian
rehidrasi DNA

Lampiran 3. Pengukuran kadar dan kemurnian



Pengecekan kadar dan kemurnian



a. Perhitungan kadar

Replikasi	A260 nm	A280 nm	Konsentrasi (ng/μl)	Kemurnian
Replikasi 1 suhu -20°C	0,174	0,086	124,41	2,023
Replikasi 2 suhu -20°C	0,239	0,117	170,885	2,042
Replikasi 3 suhu -20°C	0,225	0,117	160,875	1,923
Replikasi 4 suhu -20°C	0,349	0,191	249,535	1,827
Replikasi 5 suhu -20°C	0,352	0,190	251,68	1,852
Replikasi 1 suhu 3°C	0,087	0,036	62,205	2,416
Replikasi 2 suhu 3°C	0,144	0,066	102,96	2,181
Replikasi 3 suhu 3°C	0,216	0,120	154,44	1,8
Replikasi 4 suhu 3°C	0,156	0,073	111,54	2,136
Replikasi 5 suhu 3°C	0,163	0,073	116,545	2,232
Replikasi 1 suhu 10°C	0,274	0,150	195,91	1,826
Replikasi 2 suhu 10°C	0,231	0,121	165,165	1,909
Replikasi 3 suhu 10°C	0,252	0,133	180,18	1,894
Replikasi 4 suhu 10°C	0,202	0,106	144,43	1,905
Replikasi 5 suhu 10°C	0,200	0,099	143	2,020

Faktor Pengenceran :

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

Konsentrasi = Abs260nm x Faktor Pengenceran x 50 μg

$$\text{Replikasi 1 suhu -20°C} = 0.174 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 124,41$$

$$\text{Replikasi 2 suhu -20°C} = 0.239 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 170,885$$

$$\text{Replikasi 3 suhu -20°C} = 0.225 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 160,875$$

$$\text{Replikasi 4 suhu -20°C} = 0.349 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 249,535$$

$$\text{Replikasi 5 suhu -20°C} = 0.352 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 251,68$$

$$\text{Replikasi 1 suhu 3°C} = 0,087 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 62,205$$

$$\text{Replikasi 2 suhu 3°C} = 0.144 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 102,96$$

$$\text{Replikasi 3 suhu } 3^{\circ}\text{C} = 0.216 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 154,44$$

$$\text{Replikasi 4 suhu } 3^{\circ}\text{C} = 0.156 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 111,54$$

$$\text{Replikasi 5 suhu } 3^{\circ}\text{C} = 0.163 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 116,545$$

$$\text{Replikasi 1 suhu } 10^{\circ}\text{C} = 0.274 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 195,91$$

$$\text{Replikasi 2 suhu } 10^{\circ}\text{C} = 0.231 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 165,165$$

$$\text{Replikasi 3 suhu } 10^{\circ}\text{C} = 0.252 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 180,18$$

$$\text{Replikasi 4 suhu } 10^{\circ}\text{C} = 0.202 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 144,43$$

$$\text{Replikasi 5 suhu } 10^{\circ}\text{C} = 0,200 \times 14.3 \mu\text{g} \times 50 \mu\text{g} = 143$$

b. Perhitungan kemurnian

Replikasi	A260 nm	A280 nm	Konsentrasi (ng/μl)	Kemurnian
Replikasi 1 suhu -20°C	0,174	0,086	124,41	2,023
Replikasi 2 suhu -20°C	0,239	0,117	170,885	2,042
Replikasi 3 suhu -20°C	0,225	0,117	160,875	1,923
Replikasi 4 suhu -20°C	0,349	0,191	249,535	1,827
Replikasi 5 suhu -20°C	0,352	0,190	251,68	1,852
Replikasi 1 suhu 3°C	0,087	0,036	62,205	2,416
Replikasi 2 suhu 3°C	0,144	0,066	102,96	2,181
Replikasi 3 suhu 3°C	0,216	0,120	154,44	1,8
Replikasi 4 suhu 3°C	0,156	0,073	111,54	2,136
Replikasi 5 suhu 3°C	0,163	0,073	116,545	2,232
Replikasi 1 suhu 10°C	0,274	0,150	195,91	1,826
Replikasi 2 suhu 10°C	0,231	0,121	165,165	1,909
Replikasi 3 suhu 10°C	0,252	0,133	180,18	1,894
Replikasi 4 suhu 10°C	0,202	0,106	144,43	1,905
Replikasi 5 suhu 10°C	0,200	0,099	143	2,020

$\frac{\text{A260 nm}}{\text{A280 nm}}$

Rasio Kemurnian : $\frac{\text{A260 nm}}{\text{A280 nm}}$

$$\text{Replikasi 1 suhu } -20^{\circ}\text{C} = \frac{0,174}{0,086} = 2,023$$

$$\text{Replikasi 2 suhu } -20^{\circ}\text{C} = \frac{0,239}{0,117} = 2,042$$

$$\text{Replikasi 3 suhu } -20^{\circ}\text{C} = \frac{0,225}{0,117} = 1,923$$

$$\text{Replikasi 4 suhu } -20^{\circ}\text{C} = \frac{0,349}{0,191} = 1,827$$

$$\text{Replikasi 5 suhu } -20^{\circ}\text{C} = \frac{0,352}{0,190} = 1,852$$

$$\text{Replikasi 1 suhu } 3^{\circ}\text{C} = \frac{0,087}{0,036} = 2,416$$

$$\text{Replikasi 2 suhu } 3^{\circ}\text{C} = = \frac{0,144}{0,066} = 2,181$$

$$\text{Replikasi 3 suhu } 3^{\circ}\text{C} = = \frac{0,216}{0,120} = 1,8$$

$$\text{Replikasi 4 suhu } 3^{\circ}\text{C} = = \frac{0,156}{0,073} = 2,136$$

$$\text{Replikasi 5 suhu } 3^{\circ}\text{C} = = \frac{0,163}{0,073} = 2,232$$

$$\text{Replikasi 1 suhu } 10^{\circ}\text{C} = = \frac{0,274}{0,150} = 1,826$$

$$\text{Replikasi 2 suhu } 10^{\circ}\text{C} = = \frac{0,231}{0,121} = 1,909$$

$$\text{Replikasi 3 suhu } 10^{\circ}\text{C} = = \frac{0,252}{0,133} = 1,894$$

$$\text{Replikasi 4 suhu } 10^{\circ}\text{C} = = \frac{0,202}{0,106} = 1,905$$

$$\text{Replikasi 5 suhu } 10^{\circ}\text{C} = = \frac{0,200}{0,099} = 2,020$$

Lampiran 4. Analisis Data Kadar DNA

a. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Perbedaan suhu	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar DNA	Suhu -20oC	.304	5	.147	.819	5	.114
	Suhu 3oC	.269	5	.200	.937	5	.648
	Suhu 10oC	.347	5	.049	.788	5	.065

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
kadar DNA	Based on Mean	2.403	2	12	.133
	Based on Median	.899	2	12	.433
	Based on Median and with adjusted df	.899	2	10.721	.435
	Based on trimmed mean	2.330	2	12	.140

c. Uji One Way Anova

ANOVA					
kadar DNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	41303553732.933	2	20651776866.467	5.635	.019
Within Groups	43980274826.800	12	3665022902.233		
Total	85283828559.733	14			

d. Post Hoc Test

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: kadar DNA						
LSD						
(I) perbedaan suhu	(J) perbedaan suhu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
suhu -20	suhu 3	99078.600*	38288.499	.024	15655.13	182502.07
	suhu 10	120452.200*	38288.499	.008	37028.73	203875.67
suhu 3	suhu -20	-99078.600*	38288.499	.024	-182502.07	-15655.13
	suhu 10	-21373.600	38288.499	.587	-62049.87	104797.07
suhu 10	suhu -20	-120452.200*	38288.499	.008	-203875.67	-37028.73
	suhu 3	-21373.600	38288.499	.587	-104797.07	62049.87

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

Suhu -20 berbeda signifikan dengan kelompok suhu 3 dan 10 (*)

Lampiran 5. Analisis Data Kemurnian DNA

a. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Perbedaan suhu	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kemurnian	Suhu -20oC	.337	5	.065	.822	5	.121
	Suhu 3oC	.293	5	.186	.830	5	.138
	Suhu 10oC	.258	5	.200*	.947	5	.717

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

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Replikasi Kemurnian	Based on Mean	1,972	2	12	,182
	Based on Median	,392	2	12	,684
	Based on Median and with adjusted df	,392	2	9,394	,686
	Based on trimmed mean	1,863	2	12	,197

c. Uji One Way Anova

ANOVA					
Replikasi Kemurnian					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
<u>Between Groups</u>	3,576	2	1,788	10,143	0,003
<u>Within Groups</u>	2,116	12	0,176		
Total	5,692	14			

d. Post Hoc Test

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Replikasi Kemurnian						
LSD						
(I) Perbedaan suhu	(J) Perbedaan suhu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Suhu 3oC	Suhu 10oC	-,707000*	,265556	,021	-1,28560	-,12840
	Suhu -20oC	-1,189000*	,265556	,001	-1,76760	-,61040
Suhu 10oC	Suhu 3oC	,707000*	,265556	,021	,12840	1,28560
	Suhu -20oC	-,482000	,265556	,095	-1,06060	,09660
Suhu -20oC	Suhu 3oC	1,189000*	,265556	,001	,61040	1,76760
	Suhu 10oC	,482000	,265556	,095	-,09660	1,06060

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