

IDENTIFIKASI DNA DAN PENETAPAN KADAR PROTEIN PADA DAUN JERUK LIMAU (*Citrus amblycarpa*)

Dewi Mashitoh¹, Layli Joyvita Sheila Hafid¹, Maureen Novena¹, Namira Azzahra¹, Putri
Silvianingrum¹, Shevana Noerzama¹, Siti Nurkholifah¹, Fibe Yulinda Cesa¹

¹Universitas Ma Chung

fibe.yulinda@machung.ac.id

Received: 01 January 2025 – Revised: 11 February 2025 - Accepted: 20 February 2025 - Published: 20 March 2025

Abstrak

Daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa*) memiliki potensi sebagai bahan pengobatan infeksi kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan DNA dan protein dalam daun jeruk limau menggunakan metode PCR dan elektroforesis gel. Metode yang digunakan mencakup isolasi DNA dengan buffer ekstraksi dan CTAB, amplifikasi DNA dengan PCR, serta elektroforesis gel untuk analisis DNA. Isolasi dan purifikasi protein dilakukan dengan metode salting out, dan konsentrasi protein dianalisis menggunakan metode Bradford. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemurnian DNA pada dua sampel berturut-turut adalah 0,635 nm dan 1,721 nm, dengan sampel kedua memenuhi standar kemurnian (1,7-1,9 nm). Proses PCR berhasil menggandakan segmen DNA target, namun elektroforesis hanya menunjukkan DNA ladder tanpa band DNA daun jeruk limau, kemungkinan akibat kontaminasi atau degradasi DNA. Analisis protein menggunakan metode Bradford menghasilkan kurva standar dengan persamaan $y = 0,0029x + 0,6016$ ($R^2 = 0,9489$). Kadar protein pada tiga sampel berturut-turut adalah 564,38 ng/ μ l, 563,66 ng/ μ l, dan 563,34 ng/ μ l, dengan rata-rata 563,79 ng/ μ l, yang berada dalam rentang normal (400-700 ng/ μ l). Penelitian ini memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan daun jeruk limau sebagai bahan aktif farmasi.

Kata Kunci : *Citrus amblycarpa*, isolasi DNA, PCR, elektroforesis gel, isolasi protein, metode bradford

Abstract

Lime leaves (Citrus amblycarpa) have the potential as a treatment for skin infections. This study aims to identify the DNA and protein content in lime leaves using PCR and gel electrophoresis methods. The methods used include DNA isolation with extraction buffer and CTAB, DNA amplification with PCR, and gel electrophoresis for DNA analysis. Protein isolation and purification were carried out using the salting out method, and protein concentration was analyzed using the Bradford method. The results showed that the purity of DNA in two consecutive samples was 0.635 nm and 1.721 nm, with the second sample meeting the purity standard (1.7-1.9 nm). The PCR process successfully duplicated the target DNA segment, but electrophoresis only showed a DNA ladder without a lime leaf DNA band, possibly due to contamination or DNA degradation. Protein analysis using the Bradford method produced a standard curve with the equation $y = 0.0029x + 0.6016$ ($R^2 = 0.9489$). The protein levels in the three samples were 564.38 ng/ μ l, 563.66 ng/ μ l, and 563.34 ng/ μ l, respectively, with an average of 563.79 ng/ μ l, which is within the normal range (400-700 ng/ μ l). This study provides a scientific basis for the development of lime leaves as an active pharmaceutical ingredient.

Keywords: *Citrus amblycarpa*, DNA isolation, PCR, gel electrophoresis, protein isolation, Bradford method

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi kulit pada manusia merupakan jenis penyakit yang sangat sering terjadi. Penyakit infeksi kulit sering disebut sebagai penyakit menular karena dapat menginfeksi dari satu individu ke individu lain, baik melalui kontak langsung maupun tidak. Faktor yang berperan dalam penularan penyakit kulit adalah sosio ekonomi yang rendah, hygiene perorangan yang kurang baik, lingkungan yang tidak bersih dan perilaku yang tidak mendukung kesehatan. Penyakit infeksi kulit biasanya disebabkan oleh bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan dapat diobati menggunakan daun jeruk limau (Azizah dkk, 2019). Daun jeruk limau memiliki daun yang tersusun secara berseling berupa daun tunggal dimana tangkai daunnya lebih pendek dibanding helaian daun atau disebut *brevipetiolate*. Helaian dari daun jeruk limau berbentuk bulat dengan tepi *crenate*, dan ujung pangkalnya lancip serta perbandingan pajangnya 1,8-2 mm. Dimensi tangkai daun untuk panjangnya sekitar 17-22 mm dengan lebar 5-9 mm (Putri B, 2023).

Dalam penelitian ini, dilakukan identifikasi komponen senyawa pada kandungan daun jeruk limau. Tahapan identifikasi kandungan bioaktif daun jeruk limau melibatkan beberapa langkah teknis yang dimulai dengan isolasi DNA. Proses ini bertujuan untuk memperoleh DNA murni dari daun melalui penghancuran jaringan daun menggunakan larutan buffer lisis, diikuti dengan pemurnian menggunakan metode presipitasi alkohol atau kit khusus. DNA yang berhasil diisolasi kemudian dianalisis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk memperbanyak segmen tertentu dari DNA yang diduga berhubungan dengan produksi senyawa bioaktif. Produk PCR ini selanjutnya dianalisis menggunakan elektroforesis gel, yaitu teknik pemisahan fragmen DNA berdasarkan ukurannya dengan memanfaatkan medan listrik. Fragmen DNA yang terpisah akan terlihat sebagai pita-pita pada gel setelah diberi pewarna khusus, sehingga mempermudah identifikasi gen target. Selain analisis DNA, kandungan protein dalam daun jeruk limau juga dievaluasi. Selanjutnya terdapat tahap isolasi, dimana sampel daun jeruk limau diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai untuk memisahkan komponen-komponen senyawa dari tanaman. Dilakukan proses purifikasi yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa murni dengan menghilangkan pengotor menggunakan berbagai teknik seperti kromatografi. Setelah mendapatkan senyawa yang murni, tahap berikutnya adalah penentuan konsentrasi protein menggunakan metode spektrofotometri yang dapat mengukur kadar protein secara akurat. Proses penyusunan ini penting dilakukan untuk mengetahui jenis dan jumlah senyawa yang terkandung dalam daun jeruk limau, sehingga dapat menjadi dasar pengembangan produk kesehatan atau farmasi di masa mendatang (Triani, 2020).

METODE

Alat dan Bahan Isolasi DNA, PCR, dan Elektroforensis DNA

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mortal dan alu, mikropipet ~20 µl, 20-200 µl, 100- 1000 µl, tip, water bath, eppendorf 2 ml, vortex dan sentrifuge untuk preparasi sampel serta spektrofotometer UV-Vis untuk menghitung kemurnian dan konsentrasi DNA. Kemudian PCR, PCR tubes, dan Aparatus agarose gel elektroforesis. Bahan yang digunakan yaitu daun jeruk limau segar, Buffer ekstraksi (Tris-HCl (pH 8) 200 mM, EDTA (pH 8) 25 mM, NaCl 200 mM, SDS 0.5%), 2 × CTAB (Tris-HCl (pH 8) 100 mM, EDTA (pH 8) 20 mM, NaCl 1.4 M, CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) 2% (w/v), PVP 1% (w/v)), Buffer TE (Tris-HCl (pH 8) 10 mM, EDTA (pH 8) 1 mM), Kloroform:Isoamyl alcohol (24:1), Isopropanol, Etanol 70% untuk preparasi sampel, kemudian DNA template, Primer (Forward dan Reverse), Premix PCR, Nuclease-free water, Buffer TBE (Tris 10 gram, asam borat 5,5 gram dan EDTA 0,74 gram), dan EtBr

Preparasi Sampel

Dihangatkan buffer ekstraksi di suhu 60°C. Kemudian daun jeruk limau segar ~800 mg di potong-potong kecil (± 0.5 cm) dan dimasukkan ke dalam mortar. Ke dalam mortar tersebut ditambahkan 600 µl buffer ekstraksi dan gerus daun hingga halus, tambahkan 1200 µl buffer ekstraksi dan gerus kembali hingga halus. Kemudian ditambahkan nitrogen cair. Dipindahkan semua gerusan daun beserta cairan hasil gerusan ke dalam Eppendorf 2 ml. Di dalam Eppendorf tersebut ditambahkan 400 µl 2× CTAB lalu vortex minimum 1 min. Selanjutnya di Spindown di 8.400 × g selama 10 min. Pindahkan supernatant ke Eppendorf 2 ml baru dan tambahkan Kloroform:Isoamyl alcohol 24:1 sebanyak volume yang sama (equal volume). Selanjutnya di Vortex minimum 1 min dilanjutkan spindown di 8.400 × g selama 10 min. Pindahkan fase atas ke Eppendorf 2 ml baru lalu tambahkan isopropanol (equal volume) dan di invert 15 × dilanjutkan dengan spindown di 8.400 × g selama 10 min. Amati pellet yang terbentuk, tuang hati-hati cairan tanpa mengganggu pellet. Kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 1 ml, invert tube beberapa kali lalu spindown di 8.400 × g selama 5 min.

Diulang minimal $2 \times$ lalu keringkan pellet dengan air-dry selama minimum 25 min. Suspensikan pelet dengan penambahan 80 μ l buffer TE. Kemudian Simpan DNA di 20°C.

Pengukuran Kemurnian dan Konsentrasi DNA dengan Spektrofotometer UV-Vis

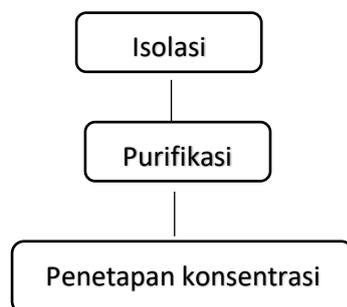
Dinyalakan spektrofotometer. Kemudian Tambahkan 500 μ l buffer ke dalam 2 kuvet quartz 500 μ l. Masukkan kedua kuvet dan read baseline dilanjutkan dengan blank (ukur pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm Keluarkan kuvet sample, bilas dengan etanol dan aseton lalu keringkan. Tambahkan 495 μ l buffer TE lalu tambahkan 5 μ l DNA, tutup kuvet dan inverting 15 kali. Masukkan kuvet ke dalam spektrofotometer dan read sample pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Hitung konsentrasi dan kemurnian DNA.

Gel Elektroforensis

Mensuspensi agarose dengan menimbang 0,75 g agarose dalam 75 ml buffer TBE, kemudian dimicrowave kurang lebih 2 menit hingga larut setelah larut tambahkan ETBr sebanyak 0,75 μ l, kemudian tuangkan ke gel tray dan tunggu hingga memadat. Setelah itu membuat buffer TBE dengan menambahkan tris 10 g, asam borat 5,5g dan EDTA 0,74g. Setelah memadat pindahkan kedalam elektroforesis runningtray lalu tambahkan buffer sampai tanda max kemudian load DNA ladder 0,75 μ l kedalam well no 3 dan DNA template 0,75 μ l dalam well 5 dan 7. Mulai elektroforesis selama 1 jam dengan 110 volt. Amati pola pita di bawah sinar UV lamp.

Alat dan Bahan Isolasi, Purifikasi, dan Penetapan Konsentrasi Protein

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mortar dan alu, tabung eppendorf 12 pcs, setrifus dingin, es batu, termos, baki, mikropipet, white tip, blue tip, yellow tip, spektrofotometer, dan kuvet. Untuk bahan yang digunakan yaitu daun jeruk limau, nitrogen cair, 10% PVP, buffer ekstraksi (50mM Buffer fosfat; 10 mM MgCl₂; 1 mM EDTA; 150 mM NaCl), amonium sulfat, reagen bradford, water for Injection (WFI), metanol, dan ovine serum albumin (BSA).



Gambar 2. Kerangka Prosedur Kerja Protein

Isolasi

Siapkan alat dan bahan dan potong kecil-kecil daun jeruk limau tanpa tulang daun kemudian masukkan kedalam mortir dan digerus dalam keadaan dingin setelah itu tambahkan nitrogen cair sampai sampel daun halus semua, kemudian ditambahkan PVP sebanyak 2ml dan buffer sebanyak 2ml dan gerus ad homogen dalam keadaan dingin, setelah itu diambil 1ml ditaruh di effendrof kemudian di sentrifugasi selama 15 menit dengan rpm 10.000.

Purifikasi

Ambil supernatan 1 ml dari sampel kemudian tambahkan amonium sulfat 1 ml dan ditaruh di effendrof, kemudian di spindown selama 5 menit, setelah itu ambil fase atas 100 μ l dan tambahkan reagen bradford 1,5ml/1500 μ l dan di inverting beberapa kali, lalu tunggu selama 10 menit kemudian di spektro dan diamati absorbansinya.

Kurva baku

Siapkan 7 effendrof dan masing-masing tabung dengan konsentrasi 0ng, 10ng, 20ng, 40ng, 60ng, 80ng dan 100 ng, setelah itu tambahkan BSA sesuai jumlah konsentrasi pada masing-masing tabung effendrof dan tambahkan WFI ad 100 μ l, lalu bungkus tabung effendrof dengan alluminium foil, kemudian tambahkan bradford 1,5ml lalu di invertng 15x dan tunggu selama 10 menit, kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan replikasi 3x dalam setiap konsentrasi.

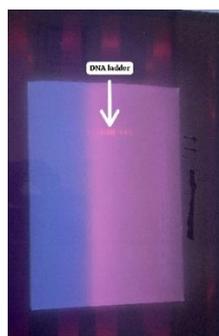
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA merupakan langkah awal yang penting dalam analisis molekuler untuk memperoleh DNA murni yang dapat digunakan dalam PCR. Pada penelitian ini, hasil isolasi DNA dianalisis tingkat kemurniannya menggunakan rasio absorbansi, yang menunjukkan perbedaan signifikan antara dua sampel. Hasil kemurnian DNA pada sampel pertama yaitu 0,63536971nm dan pada sampel kedua yaitu 1,72099722nm. Pada sampel kedua masuk dalam rentang kemurnian yaitu 1,7nm-1,9nm sedangkan pada sampel pertama dibawah nilai rentang. Hal tersebut menunjukkan adanya kontaminasi berupa fenol atau protein dalam larutan.. Karena kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan, molekul DNA yang telah terukur dapat diketahui mencapai nilai standar yang berkisar antara 1,7nm-1,9nm. Jika nilai lebih kecil dari 1,7nm maka dapat terindikasi mengalami kontaminasi protein, alkohol, atau fenol didalam larutan (Rahayu & Hartati, 2023).

DNA yang telah diisolasi dilakukan Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR merupakan suatu metode in vitro untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sebagian kecil template kompleks (Salsabila et al., 2021). Prinsip kerja dari PCR didasarkan pada kemampuan enzim DNA polymerase untuk mensintesis untai DNA baru yang merupakan komplementer dari DNA cetakan. PCR melibatkan tiga tahap siklus temperatur berurutan, yaitu: denaturasi template pada suhu 94-95°C, annealing (penempelan) primer pada suhu 50-60°C, dan elongasi (pemanjangan) pada suhu 72°C (Purwakasih, 2021).

Setelah dilakukan PCR, DNA tersebut dipisahkan menggunakan elektroforesis. Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda yang memisahkan senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion. Teknik ini dapat memisahkan sampel DNA dengan ukuran dari beberapa ratus hingga 20.000 pasang basa (Harahap, 2018). Dalam proses elektroforesis membutuhkan media pemisah berupa fase diam. Fase diam yang digunakan yaitu gel agarosa yang dicampur dengan larutan buffer untuk menjaga kondisi keasaman DNA saat proses pemisahan (Rohmana, 2016). Pada gel agaorsa juga ditambahkan pewarna EtBR untuk meningkatkan daya fluoresensi DNA saat disinari sinar UV yang akan menyisip di sela-sela basa nukloetida (Harahap, 2018).

Proses dari elektroforesis dimulai selama 1 jam. Prinsip kerja dari elektroforesis yaitu berdasarkan pergerakan partikel-partikel bermuatan negatif (anion) seperti DNA akan bergerak menuju kutub positif. Sedangkan partikel bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif. Semakin kecil ukuran molekulnya maka semakin cepat laju migrasinya, karena matriks gel mengandung jaringan kompleks berpori-pori sehingga partikel tersebut dapat bergerak melalui matriks (Anam et al., 2021). Hasil dari proses elektroforesis dilampirkan pada Gambar 3. Hasil tersebut hanya menunjukan DNA ladder tanpa adanya band DNA daun jeruk limau yang diharapkan. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor, yaitu: kemurnian DNA yang rendah ketika dilakukan pengukuran dari isolasi DNA yaitu 0,6536nm dibawah standar 1,7, kemungkinan terjadinya degradasi DNA sebelum elektroforesis yang disebabkan oleh enzim DNase yang tidak terkontrol, dan kesalahan dalam proses amplifikasi PCR seperti kondisi reaksi yang tidak optimal sehingga produk amplifikasi mungkin tidak terbentuk (Sinha & Srivasta, 2019)



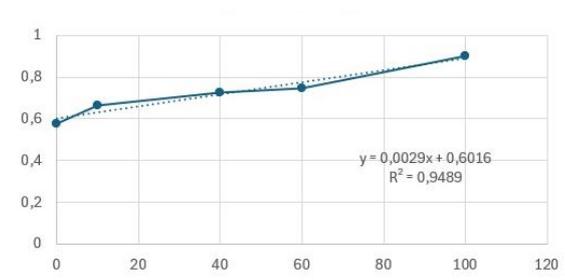
Gambar 3. Hasil Elektroforesis

Isolasi protein merupakan tahap awal untuk memperoleh protein target dalam bentuk murni yang diperlukan untuk analisis lebih lanjut. Prinsip isolasi protein adalah memisahkan protein dari komponen lain dengan memanfaatkan perbedaan sifat fisikokimia, seperti kelarutan, stabilitas, dan afinitasnya terhadap pelarut tertentu. Pada tahap ini dilakukan ekstraksi protein dengan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sari & Moulina, 2020). Pelarut yang digunakan adalah buffer ekstraksi yang terdiri dari 50 mM buffer fosfat, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, dan 150 mM NaCl yang bertujuan untuk menghancurkan struktur lipid dan protein penyusun membran sel. Buffer berfungsi melindungi protein dari degradasi oleh enzim protease serta mencegah denaturasi akibat perubahan kondisi lingkungan selama isolasi (Triani, 2020).

Setelah diperoleh hasil isolasi protein, tahap selanjutnya adalah purifikasi protein yang bertujuan untuk meningkatkan kemurnian protein target dengan menghilangkan kontaminan lainnya. Salah satu metode yang digunakan adalah *salting out*, yaitu pengendapan protein dengan menambahkan garam ammonium sulfat secara bertahap. Penambahan garam ini meningkatkan kekuatan ionik larutan, sehingga garam lebih mampu mengikat molekul air dan menyebabkan interaksi antar molekul protein menjadi lebih dominan dibandingkan interaksi protein dengan air (Sari & Moulina, 2020). Akibatnya, protein mengalami pengurangan kelarutan dan membentuk endapan. Setelah proses pengendapan selesai, fase atas (supernatan) dipisahkan untuk analisis lebih lanjut. Reagen Bradford kemudian ditambahkan ke supernatan untuk mengikat protein, menghasilkan kompleks berwarna biru yang intensitasnya sebanding dengan konsentrasi protein (Sari & Moulina, 2020).

Metode *salting out* memiliki beberapa kelebihan, di antaranya sangat efektif untuk memisahkan protein berdasarkan perbedaan kelarutannya, mampu menghasilkan tingkat kemurnian protein yang tinggi, tidak merusak struktur protein selama proses, serta memiliki biaya yang relatif rendah. Namun, metode ini juga memiliki beberapa kekurangan, seperti selektivitasnya yang terbatas karena sulit untuk memisahkan protein dengan karakteristik kelarutan yang serupa. Akibatnya, metode ini dapat mengendapkan protein non-target bersamaan dengan protein target, sehingga kurang ideal untuk purifikasi protein dengan tingkat spesifisitas yang tinggi (Subandrate, dkk., 2022).

Penetapan kadar protein menggunakan metode Bradford didasarkan pada interaksi pewarna Coomassie Brilliant Blue G-250 dengan protein dalam sampel. Pewarna ini secara spesifik berikatan dengan residu asam amino bermuatan positif, terutama arginin, serta gugus hidrofobik pada protein, yang menyebabkan perubahan warna larutan dari cokelat kemerahan menjadi biru (Hadinoto & Syukroni, 2019). Intensitas warna biru yang dihasilkan sebanding dengan jumlah protein dalam sampel, sehingga konsentrasi protein dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 595 nm (Hadinoto & Syukroni, 2019). Metode Bradford banyak digunakan karena sederhana, cepat, sensitif terhadap protein, kompatibel dengan agen pereduksi, dan mampu memberikan hasil yang akurat dalam berbagai jenis analisis protein (Hadinoto & Syukroni, 2019).



Gambar 4. Kurva standar

Berdasarkan kurva standar yang diperoleh, terlihat hubungan linier antara konsentrasi protein dengan nilai absorbansi, sebagaimana ditunjukkan oleh persamaan regresi linear $y = 0,0029x + 0,6016$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9489. Hubungan ini menunjukkan bahwa kenaikan nilai absorbansi seiring dengan peningkatan konsentrasi protein, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 1. Semakin tinggi konsentrasi protein dalam sampel, semakin banyak kompleks pewarna yang terbentuk, yang ditandai dengan peningkatan nilai absorbansi. Dalam pembuatan kurva standar, konsentrasi protein yang digunakan adalah 0 ng, 10 ng, 40 ng, 60 ng, dan 100 ng. Rentang konsentrasi ini dipilih untuk menghasilkan nilai R^2 yang mendekati 1, menandakan hubungan linier yang kuat antara absorbansi dan konsentrasi protein (Hadinoto & Syukroni, 2019).

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi

Konsentrasi (ng)	Absorbansi
0	0,575267
10	0,6649
40	0,728333
60	0,746233
100	0,899533

Kadar protein yang dihasilkan dari ketiga sampel, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2, memiliki nilai absorbansi berturut-turut sebesar 564,3793 ng/μl, 563,6551 ng/μl, dan 563,3448 ng/μl. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga sampel memiliki tingkat presisi yang baik, dengan kadar protein yang berada dalam rentang umum 400–700 ng/μl (Kumar, 2017). Nilai rata-rata kadar protein yang diperoleh adalah 563,7930 ng/μl, yang juga masuk dalam rentang konsentrasi yang sesuai untuk metode Bradford, yaitu 100–1000 ng/μl (Kumar, 2017). Data ini menunjukkan bahwa metode Bradford dapat memberikan hasil yang akurat dalam menentukan kadar protein dengan tingkat presisi dan akurasi yang memadai (Kumar, 2017).

Tabel 2. Kadar protein

Sampel	Kadar (ng/μl)	Rata-rata
1	564,3793	563,7930
2	563,6551	
3	563,3448	

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil isolasi DNA daun jeruk limau menunjukkan tingkat kemurnian yang berbeda pada dua sampel, dimana sampel pertama memiliki nilai 0,63536971 nm (di bawah standar) dan sampel kedua 1,72099722 nm (memenuhi standar 1,7-1,9 nm). Analisis elektroforesis hanya menunjukkan DNA ladder tanpa band DNA target yang mengindikasikan adanya kendala dalam proses isolasi dan amplifikasi DNA. Sementara itu, analisis protein menggunakan metode Bradford menunjukkan hasil yang konsisten dengan rata-rata kadar protein 563,7930 ng/μl dari tiga sampel yang berada dalam rentang normal 400-700 ng/μl, dengan kurva standar yang menunjukkan linearitas yang baik ($R^2 = 0,9489$). Hal ini mengindikasikan bahwa metode Bradford efektif untuk analisis protein daun jeruk limau, namun diperlukan optimasi lebih lanjut untuk analisis DNA.

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan optimasi protokol isolasi DNA untuk meningkatkan kemurnian DNA yang diperoleh, termasuk modifikasi komposisi buffer dan kondisi ekstraksi. Penyesuaian parameter PCR seperti suhu annealing dan jumlah siklus juga diperlukan untuk mengoptimalkan amplifikasi DNA target. Selain itu, disarankan untuk menyediakan fasilitas penyimpanan sampel yang lebih baik untuk mencegah degradasi DNA dan protein, serta mengembangkan standar operasional prosedur yang lebih terperinci untuk analisis molekuler tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, K., Cahywadi, W., Azmi, I., & Senjarini, K. 2021. Analisis Hasil Elektroforesis DNA dengan Image Processing Menggunakan Metode Gaussian Filter. *Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems*, 11(1), pp. 37-48.
- Azizah, M., Lingga, L.S., Rikmasari, Y. 2020. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) dan madu hutan terhadap beberapa bakteri penyebab penyakit kulit. *Jurnal penelitian sains*, 22(1), 37-44.
- Hadinoto, S., & Syukroni, I. 2019. Pengukuran protein terlarut air cucian gelembung renang dan kulit ikan tuna menggunakan metode Bradford, *Majalah Biam*, 15(1), 15-20.

- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1), Hal. 21-26.
- Kumar, A. 2017, Modified Bradford Method for Accurate Protein Quantification in Complex Biological Sample, *Analytical Biochemistry*, 5-17.
- Manullang, H. F., Marbun, V. E., & Nurjannah, I. S. 2020. Uji Efektifitas Air Perasan Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle.) Sebagai Pestisida Nabati Terhadap Lalat Buah. *Jurnal Inovasi Kesehatan Masyarakat*, 121-126.
- Moore, G. A. 2021. Oranges and lemons: Clues to the taxonomy of Citrus from molecular markers. *Trends in Genetics*, 17(9), 536-540.
- Purwakasih, D. B. 2021 Desain Primer dan PCR In Silico untuk Deteksi *Shigella* Sp. pada Sampel Air Minum Isi Ulang. *Serambi Biologi*, 6(1).
- Putri T. J. B., & Ratna S. 2023. Karakterisasi Morfologi Citrus jambhiri Lush. dan Hubungan Kekerabatannya dengan Citrus amblycarpa (Hassk.) OCHSE. *AL-KAUNIYAH: Jurnal Biologi*, 16(2), 255-268.
- Rahayu, S., & Hartati, N. S. (2023). Perkembangan Teknik Analisis Kemurnian DNA. *Jurnal Biologi Molekuler*, 9(1), 45-57.
- Rohmana A. et all. 2016. Penggunaan Agar-agar Komersial sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2), Hal. 130 – 133.
- Salsabila,N., Fadila., Permana, R. C. 2021. Penentuan Sekuens Terbaik untuk Gen COI pada *Crocodylus rhombifer* Menggunakan Software Perlprimer dan Primer Blast sebagai Bentuk Praktikum Saat COVID-19. *Indonesian Journal of Science Learning*, 2(1).
- Sari, M., & Moulina, M. A. (2020). Pengaruh Variasi Waktu Perendaman Sampel dan Jumlah Pelarut Homogenasi terhadap Persentase Ekstrak Protein Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 7(1), 51-56.
- Sinha, R., & Srivasta, A. 2019. Challenges in DNA Electrophoresis: A Review. *Journal of Biocemical Technology*, 10(2).
- Subandrate, M., Irsan.S., Dwirin, R.G., & Hermansyah, S. S., (2022) ISOLASI DAN PURIFIKASI PROTEIN IKAT FOLAT DARI AIR SUSU IBU., Unsri Press, Palembang.
- Triani, N. (2020). Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan Menggunakan Metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). *Jurnal Teknologi Terapan*, vol (3) no.2, 221-226

