

## **Analisis konsentrasi dan kemurnian Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) dari rumput pakan ternak**

### ***Concentration and Purity Analysis of Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) from Forage Grasses***

**Syafiradewi Yulianti \*, Romi Zamhir Islami, Mansyur, Estria Furry Pramudyawardani**

Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

Jalan Raya Bandung Sumedang Km 21, Jatinangor, Jawa Barat 45363

\*Corresponding author: [syafiradewiyulianti9i@gmail.com](mailto:syafiradewiyulianti9i@gmail.com)

#### **ABSTRACT**

This research was conducted at the Biotechnology Research and Testing Lab of the Faculty of Animal Husbandry, Padjadjaran University, and the Rice Standard Instrument Testing Center (BBPSI Padi), Subang Regency, West Java starting on September 20 to December 22, 2023. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of the HiPure Kit in isolating grass Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) by ensuring adequate concentration and cleanliness of samples from contaminants for subsequent molecular applications. The ideal DNA concentration for PCR is 20-50 ng/ $\mu$ L, with an A260/A280 absorbance ratio of about 1.8-2.0 and an A260/A230 ratio above 2.0, indicating the absence of contamination from proteins, salts, carbohydrates, or other organic compounds. The methodology of this study was a descriptive exploration involving descriptive statistical analysis to evaluate the variation in DNA concentration between samples, using spreadsheet software to facilitate data management. The results of the Nanodrop spectrophotometric analysis showed that there were variations in DNA concentration between samples, but generally within a range adequate for laboratory applications such as PCR and sequencing. In addition, the HiPure Plant DNA Kit proved effective in producing high-concentration DNA with clear and defined DNA bands in electrophoresis and effectively minimizing contaminants. Further optimization of the extraction protocol, such as adjusting the incubation time or buffer concentration, is recommended to improve DNA concentration and purity. This step will ensure higher DNA quality for downstream applications such as PCR.

**Keywords :** Concentration, DNA, Extraction, Hi Pure Kit, Purity

#### **PENDAHULUAN**

Hijauan merupakan komponen penting dalam pakan ruminansia karena menyediakan hampir semua nutrisi yang dibutuhkan, termasuk protein, energi, vitamin, dan mineral. Ketersediaan hijauan berkualitas tinggi sangat krusial untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan ternak secara ekonomis (Herlinae, 2003). Hijauan, baik dalam bentuk segar maupun kering, menyumbang lebih dari 60% dari total pakan ruminansia (Ningsih dan Setiana, 2011). Hijauan pakan mencakup berbagai jenis bahan pakan yang berasal dari bagian-bagian tanaman seperti daun, batang, ranting, dan bunga, yang umumnya berasal dari tanaman rumput, kacang-kacangan, limbah pertanian, atau dedaunan hijau lainnya (Hadi dkk., 2011). Pentingnya ketersediaan hijauan yang cukup menjadi dasar perencanaan produksi ternak (Hendarto dan Suwarno, 2013). Kendala muncul ketika ketersediaan hijauan pakan tidak mencukupi, baik dari segi kualitas, kuantitas, maupun keberlanjutannya, yang menjadi tantangan dalam pengembangan usaha peternakan (Lasmadi dkk., 2013).

Upaya perbaikan kualitas genetik tanaman hijauan dapat meningkatkan produktivitasnya secara signifikan, memastikan ketersediaan hijauan pakan yang memadai, serta menjamin kontinuitas dan hasil produktivitas ternak yang optimal. Penelitian molekuler diperlukan untuk memberikan informasi yang lebih komprehensif (Rini dkk., 2018). Namun, penelitian tentang hijauan pakan ternak masih terbatas. Rumput raja (*Pennisetum hybrid*) dikembangkan di Afrika Selatan pada tahun 1932 sebagai hasil persilangan antara rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) dan rumput barja (*Pennisetum typhoides*), dikenal karena produktivitas dan kualitas nutrisinya yang tinggi, dengan kandungan protein kasar sebesar 13,21% (Suyitman, 2014).

Selanjutnya, rumput pakchong, hibrida dari rumput gajah (*Pennisetum purpureum* X *P. Americanum*) dikembangkan di Thailand, memiliki kandungan protein kasar mencapai 16-18% (Kiyothong, 2014) dan dapat digunakan untuk produksi bioethanol (Junsiri dan Suttibak, 2016). Rumput gajah mini (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) mudah dibudidayakan, tahan kekeringan, dan memiliki kandungan protein kasar sebesar 13,94% (Sirait, 2014). Rumput Gajah Taiwan (*Pennisetum purpureum* cv. Taiwan) memiliki produksi tinggi dengan kandungan protein kasar sebesar 13,5% (Haryani dkk., 2018).

Proses ekstraksi Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) melibatkan pemisahan DNA dari bagian lain melalui prosedur seperti lisis sel, pemisahan DNA dari kotoran sel, dan deproteinasi, sangat penting untuk aplikasi biologi molekuler seperti kloning DNA, sekuensing, Polymerase Chain Reaction (PCR), dan elektroforesis (Fatchiyah dkk., 2011). Ekstraksi DNA yang efektif harus menghasilkan DNA dengan kemurnian dan konsentrasi tinggi serta tidak terdegradasi, salah satunya menggunakan *HiPure (HP) Plant DNA Kit* dari Magen Biotechnology. Dalam konteks penelitian ini, mengevaluasi konsentrasi dan kualitas atau kemurnian DNA sangat penting untuk memastikan keberhasilan amplifikasi gen target. Konsentrasi DNA yang optimal diperlukan untuk memperoleh hasil yang akurat dalam PCR, sementara kualitas dan kemurnian DNA bebas dari kontaminan seperti protein atau RNA akan meningkatkan efisiensi amplifikasi dan mengurangi risiko hasil yang tidak valid atau tidak spesifik. Oleh karena itu, evaluasi menyeluruh terhadap konsentrasi dan kualitas DNA menjadi langkah krusial dalam memastikan validitas dan reliabilitas data genetik yang diperoleh dari analisis ini.

## **MATERI DAN METODE**

### **Alat, bahan, dan tempat penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu DNA hasil ekstraksi dari Rumput Raja (*Pennisetum Hybrid*), Rumput Pakchong (*Pennisetum Purpureum* Cv. Thailand), Rumput Gajah Mini (*Pennisetum Purpureum* Cv. Mott), dan Rumput Taiwan (*Pennisetum Purpureum* Cv. Taiwan) masing-masing seberat 50-150 mg segar/beku atau 15-40 mg kering per sampel. Selain itu, digunakan pula Kit Ekstraksi DNA (*HiPure HP Plant DNA Kit*), buffer PAL,  $\beta$ -merkaptotanol, kloroform, nitrogen cair, buffer GWP, buffer DW1, buffer GW2, buffer AE, RNase A (25 mg/ml), dan etanol 100%. Sementara itu, Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mortar, spatula, timbangan analitik, tabung efordorf, water bath, vortex, centrifuge, mikropipet dan tip, tabung sentrifugasi 2 ml, *HiPure gDNA Mini Column II*, 2.0 ml Collection Tube, kotak tabung sentrifugasi 1.5 ml, inkubator, sarung tangan karet, gunting, tube 1.5 ml, tube 2 ml, lemari pendingin -20°C, Nano Drop spektrofotometer, handphone, alat tulis, dan laptop.

Penelitian dilakukan pada tanggal 20 September 2023 sampai dengan tanggal 22 Desember 2023. Sementara itu, pengujian dilakukan di Lab Riset dan Pengujian Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran dan Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Padi (BBPSI), Jl. Raya, Patok Besi, Subang No.9, Rancajaya Kec. Patokbeusi, Kabupaten Subang, Jawa Barat.

### **Metode penelitian dan variabel yang diamati**

Metode penelitian yang digunakan adalah eksplorasi deskriptif yang menggunakan analisis statistik deskriptif untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antara dua kelompok independen. Data yang terkumpul dianalisis menggunakan nilai rata-rata dan ragam simpangan baku sesuai dengan metode Sudjana (2005). Pengolahan data dilakukan dengan Microsoft Excel untuk efisiensi dan akurasi, dengan penjelasan rumus perhitungan tetap disertakan. Variabel yang diamati yaitu konsentrasi dan kemurnian DNA.

#### **Prosedur pengukuran variabel**

Konsentrasi DNA diukur dengan meneteskan 2 ml larutan DNA sampel pada nanodrop spektrofotometer yang terhubung ke komputer. Nanodrop spektrofotometer membaca konsentrasi DNA dalam satuan ng/Ll. DNA diukur pada panjang gelombang 260 nm, sementara protein diukur pada panjang gelombang 280 nm. Sementara itu, kemurnian larutan DNA dihitung dengan membandingkan OD 260 nm dengan OD 280 nm untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA dari kontaminan RNA dan protein. Secara matematis cara menghitung kemurnian dan konsentrasi yaitu:

$$\text{Kemurnian DNA} = \text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$$

Keterangan:

OD<sub>260</sub> : nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm.

OD<sub>280</sub> : nilai absorbansi pada panjang gelombang 280 nm.

$$\text{Konsentrasi DNA (p.g/ml)} = A_{260} \times 50 \text{ ng/ml (untuk DNA untai ganda)} \times \text{FP}$$

Keterangan:

A<sub>260</sub> = nilai OD<sub>260</sub> padalarutan DNA yang diukur

FP = Faktor Pengencer

Penelitian dimulai dengan Sampel rumput raja, rumput pakchong, rumput gajah mini, dan rumput Taiwan dihancurkan dengan nitrogen cair hingga menjadi bubuk, kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi 2 ml. Setelah penambahan 700 µl Buffer PAL (65°C) dan inkubasi selama 20 menit pada 65°C, ditambahkan 700 µl kloroform, divortex, dan disentrifugasi. Supernatan dipindahkan ke tabung 1,5 ml dan langkah ini diulang. Selanjutnya, 700 µl Buffer GWP ditambahkan dan campuran dimasukkan ke dalam HiPure gDNA Mini Column II dalam tabung koleksi 2.0 ml. Sentrifugasi dilakukan, diikuti dengan penambahan 500 µl Buffer DW1 dan Buffer GW2, lalu kolom dikeringkan dengan sentrifugasi. DNA dielusi dengan 40-75 µl Buffer AE (65°C) dan disimpan pada suhu 2-8°C atau -20°C.

Konsentrasi dan kemurnian DNA kemudian diperiksa menggunakan Nano Drop, dengan mengkalibrasi perangkat, membersihkan permukaan kerja, dan mengukur DNA pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm untuk memastikan kemurnian DNA sesuai standar kualitas yang baik. Setelah itu elektroforesis dengan sebanyak 2,25 g bubuk agarosa dicampur dengan 150 ml buffer TAE dan dipanaskan dalam microwave selama 3 menit ditambahkan 8 µl ETBR, diaduk hingga homogen, lalu dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan mengeras selama 45-60 menit. Pada saat agarosa mengeras, DNA sampel, loading dye, dan ladder dibiarkan mencair pada suhu ruang. Sebanyak 2 µl loading dye dicampur dengan 10 µl DNA sampel dalam tabung eppendorf 0,5 ml dan dihomogenkan. Sebanyak 7 µl ladder dimasukkan ke dalam sumur agarosa, diikuti oleh sampel yang telah dihomogenkan. Mesin elektroforesis diatur selama 2 jam pada 100 volt, kemudian hasilnya divisualisasikan menggunakan sistem dokumentasi gel.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Analisis Konsentrasi dan Kemurnian DNA**

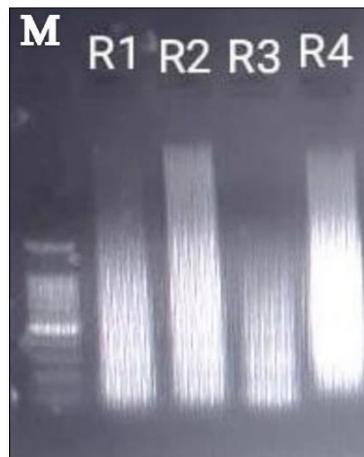
Berdasarkan hasil analisis seperti yang terlihat pada Tabel 1, variasi konsentrasi DNA rumput raja yang beragam mulai dari 61,9 hingga 149,3 ng/µL. Nilai rata-rata konsentrasi DNA rumput raja dengan menggunakan metode kit Hi Pure adalah 108,78 ng/µL. Hasil konsentrasi menunjukkan bahwa kualitas DNA yang dihasilkan sudah memadai untuk aplikasi

laboratorium lebih lanjut. Penggunaan metode ekstraksi yang tepat, yang mencakup homogenisasi jaringan, komposisi buffer yang sesuai, dan penghilangan polisakarida, akan memastikan bahwa DNA yang diekstraksi tidak hanya berkonsentrasi baik tetapi juga murni dan siap untuk analisis selanjutnya. Seperti yang disebutkan dalam berbagai literatur, konsentrasi template DNA yang ideal untuk PCR biasanya berada dalam rentang 10-100 ng/μL, tergantung pada aplikasi spesifik dan kompleksitas DNA yang digunakan (Innis & Gelfand, 1990; Sambrook & Russell, 2001; Lorenz, 2012; Quantabio, 2023).

Tabel 1. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Rumput Raja

No	Sampel	DNA Kit HiPure							
		A260 nm	A280 nm	A230 nm	Konsentras i 260	Konsentrasi 280	Konsentra si 230	Kemurnia n 260/280	Kemurnia n 260/230
1	R1	2.065	1.107	1.147	103,3	55,3	57.4	1.87	1.8
2	R1	1.996	1.062	1.018	99,8	53,1	50.9	1.88	1.96
3	R2	2.383	1.279	1.247	119,2	64	62.4	1.86	1.91
4	R2	2.493	1.336	1.333	124,7	66,8	66.7	1.87	1.87
5	R3	1.276	0.675	668	63,8	33,75	33.4	1.89	1.91
6	R3	1.239	0.649	625	61,9	32,45	31.3	1.91	1.98
7	R4	2.987	1.596	1.471	149,3	79,8	73.6	1.87	2.03
8	R4	2.967	1.599	1.648	148.4	80	82.4	1.87	1.8
X					108.78	72.00	57.26	1.88	1.94
s								0.01	0.08
s <sup>2</sup>								0.00	0.00

Semua sampel menunjukkan kemurnian yang baik dengan rasio A260/A280 mendekati 1,8-2,0 dan rasio A260/A230 sekitar 2,0, menunjukkan DNA yang relatif murni dengan rata-rata kemurniannya sebesar 1,88. Hal ini sesuai dengan Maftuchah dkk. (2014), yang menetapkan rasio A260/A280 sebesar 1,88 dan A260/A230 sebesar 1,94. Selain itu, hasil tersebut juga konsisten dengan penelitian sebelumnya oleh Hikmatyar dkk. (2015), yang menunjukkan bahwa DNA berkualitas tinggi memiliki nilai kemurnian antara 1,8 hingga 2,0. Dengan demikian, DNA yang diisolasi dari rumput raja dapat dianggap cukup berhasil untuk digunakan dalam analisis molekuler lebih lanjut, termasuk reaksi PCR dan aplikasi lainnya yang memerlukan DNA yang murni dan berkualitas tinggi.



Gambar 1. Hasil Elektroforesis Genom Rumput Raja

Keberhasilan ini juga mencerminkan kondisi sampel yang baik serta ketepatan prosedur yang diterapkan, menjadikan hasil ini sebagai indikator positif untuk kelanjutan penelitian lebih lanjut. Sampel rumput Raja menunjukkan pita DNA yang jelas dan terang, menandakan bahwa jumlah DNA yang terdeteksi pada sampel tersebut cukup banyak yang dikonfirmasi dengan hasil pengukuran konsentrasi menggunakan spektrofotometri Nanodrop, yaitu 108,78 ng/ $\mu$ L. Namun, terdapat beberapa bagian yang menunjukkan pola "smear", yang menunjukkan bahwa sampel ini mungkin masih mengandung kontaminan seperti protein, polisakarida, atau debris lainnya (Gambar 1). Pola "smear" ini juga bisa disebabkan oleh adanya RNA yang terisolasi bersama DNA selama prosedur ekstraksi. Fragmen DNA yang tampak tebal dan terdefinisi dengan baik pada gel menunjukkan bahwa DNA yang diisolasi memiliki kemurnian dan integritas yang baik.

Sebaliknya, adanya smear pada gel dapat mengindikasikan adanya degradasi DNA atau kontaminan. Seperti yang dijelaskan oleh Green dan Sambrook (2012), fragmen DNA yang tampak jelas pada gel elektroforesis mencerminkan kualitas isolasi DNA yang baik, sedangkan smear menunjukkan kemungkinan adanya degradasi atau kontaminasi dalam sampel. Visualisasi ini memungkinkan penilaian cepat dan akurat terhadap kualitas DNA yang diisolasi, yang penting untuk keberhasilan aplikasi downstream seperti PCR. Menurut Gaffar (2007), fragmen DNA yang terlihat pada gel elektroforesis dengan pita yang berpendar terang menandakan molekul-molekul DNA dengan ukuran yang sama bergerak pada kecepatan yang sama di dalam gel. Untuk mengetahui ukuran fragmen DNA, kita bisa membandingkan pita dari sampel dengan marker DNA yang diketahui ukurannya.

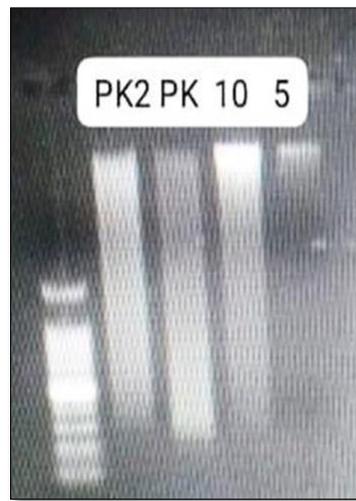
Tabel 2. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Rumput Pakchong

No	Sampel	DNA Kit HiPure							
		A260 nm	A280 nm	A230 nm	Konsentra si 260	Konsentras i 280	Konsentra si 230	Kemurni an	Kemurnia n 260/230
1	PK1	-0.139	-0.076	-0.579	-7	-3.8	-30	1.84	0.24
2	PK1	-0.137	-0.084	-0.595	-6.8	-4.2	-30	1.63	0.23
3	PK2	1.118	0.591	653	55.9	29.6	32.7	1.89	1.71
4	PK2	1.097	0.577	616	54.9	28.6	30.8	1.9	1.78
5	PK3	1.388	0.75	1028	69.4	37.5	51.4	1.85	1.35
6	PK3	1.144	0.585	0.58	57.2	29.3	29	1.96	1.96
7	PK4	1.425	0.759	989	71.3	38	49.4	1.88	1.44
8	PK4	1.402	0.742	922	70.1	37.1	46.1	1.89	1.52
X					45.6	24.01	22.43	1.86	1.28
s								0.09	0.67
s <sup>2</sup>								0.00	0.45

Selanjutnya, berdasarkan data pada Tabel 2, terlihat adanya variasi konsentrasi DNA rumput pakchong yang beragam mulai dari -7 hingga 71,3 ng/ $\mu$ L. Nilai rata-rata konsentrasi DNA rumput raja dengan menggunakan metode kit Hi Pure adalah 45,63 ng/ $\mu$ L. Meskipun ada beberapa sampel yang menunjukkan konsentrasi rendah dan adanya kontaminasi, sebagian besar sampel masih berada dalam kisaran yang dapat digunakan sebagai template dalam aplikasi PCR dan analisis molekuler lainnya. Konsentrasi rata-rata DNA menunjukkan bahwa jumlah DNA yang diekstraksi cukup untuk aplikasi laboratorium yang membutuhkan konsentrasi DNA antara 10-100 ng/reaksi. Sementara itu, Kemurnian DNA dengan rasio A260/A280 mendekati 1,8-2,0 dan rata-rata kemurniannya sebesar 1,86 menunjukkan bahwa

DNA yang diekstraksi relatif bebas dari kontaminasi protein dan cukup murni untuk analisis lebih lanjut.

Meskipun rasio A260/A230 pada beberapa sampel menunjukkan nilai yang rendah, hasil ini masih cukup baik untuk sebagian besar aplikasi molekuler. Menurut Sambrook dan Russell (2001), rasio A260/A280 antara 1,8 dan 2,0 menunjukkan DNA murni yang bebas dari kontaminasi protein. Selain itu, Innis dan Gelfand (1990) menyatakan bahwa konsentrasi DNA yang ideal untuk PCR adalah antara 10-100 ng/ $\mu$ L, yang mendukung hasil analisis ini. Hikmatyar et al. (2015) juga menekankan bahwa DNA berkualitas baik memiliki rasio kemurnian A260/A280 antara 1,8 hingga 2,0, sesuai dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini. Oleh karena itu, meskipun ada beberapa kekurangan yang perlu diperhatikan, DNA rumput pakchong yang diisolasi memiliki kualitas yang cukup baik dan kuantitas yang memadai untuk digunakan dalam penelitian molekuler lebih lanjut. Pengulangan ekstraksi atau pengecekan ulang pada sampel yang bermasalah dapat dilakukan untuk memastikan data yang lebih valid dan andal.



Gambar 2. Hasil Elektroforesis Genom Rumput Pakchong

Hasil Elektroforesis Genom rumput pakchong (Gambar 2) dengan konsentrasi yang lebih rendah dari pengukuran spektrofotometri Nanodrop (45,63 ng/ $\mu$ L), Sampel rumput Pakchong memiliki pita DNA yang tidak terlalu jelas dan sedikit terlihat lebih kabur dibandingkan dengan sampel lainnya. Ini menunjukkan bahwa konsentrasi DNA dalam sampel ini lebih rendah atau mungkin terdapat banyak kontaminan yang mengganggu visualisasi pita DNA. Kemungkinan adanya pengotor seperti protein atau RNA dalam sampel ini cukup tinggi. Menurut penelitian oleh Watson dkk. (2014), kualitas DNA yang rendah seringkali disebabkan oleh kontaminasi dari protein dan RNA yang mengganggu proses ekstraksi. Namun demikian, sampel penelitian masih menunjukkan kemurnian yang memadai karena adanya pita yang terdefinisi tanpa banyak smear. Menurut Green dan Sambrook (2012), pita yang jelas dan terang biasanya mencerminkan DNA yang murni dan utuh, sedangkan adanya smear menandakan degradasi atau kontaminasi dalam sampel. Selanjutnya, Smith et al. (2021) menggarisbawahi bahwa pita dengan intensitas tinggi umumnya berhubungan dengan konsentrasi DNA yang lebih tinggi dan kemurnian yang lebih baik.

Kecerahan dan intensitas pita berkorelasi dengan integritas struktural DNA. Kecerahan dan intensitas pita berkorelasi dengan integritas struktural DNA. Penelitian lain menunjukkan bahwa kualitas dan kuantitas DNA yang diisolasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk teknik ekstraksi, kualitas reagen, dan kondisi sampel. Menurut Tan dan Yiap (2009),

keberhasilan dalam isolasi DNA sangat bergantung pada metode ekstraksi yang tepat serta kondisi sampel yang optimal. Penelitian mereka menunjukkan bahwa variasi dalam metode ekstraksi dapat menghasilkan perbedaan signifikan dalam kemurnian dan kuantitas DNA yang diisolasi. Selain itu, penelitian oleh Sambrook dan Russell (2001) menekankan bahwa DNA dengan konsentrasi yang lebih rendah dapat menghasilkan pita yang kurang intens pada gel elektroforesis, terutama jika ada degradasi DNA atau kontaminasi selama proses isolasi. Hal ini sejalan dengan hasil elektroforesis rumput pakchong yang menunjukkan pita lebih tipis dan kurang intens, yang dapat disebabkan oleh kondisi isolasi yang kurang optimal atau kualitas reagen yang digunakan. Hal ini menggaris bawahi pentingnya metode isolasi yang tepat dan kondisi sampel yang optimal untuk menghasilkan DNA dengan kualitas dan kuantitas yang diinginkan.

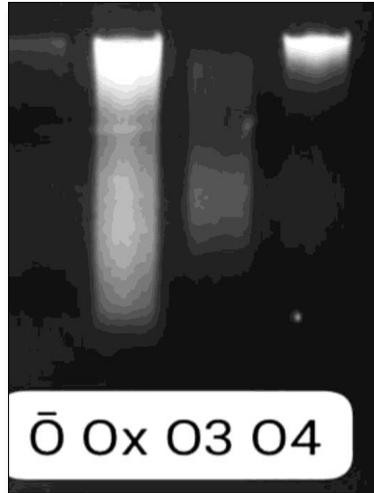
Tabel 3. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Rumput Odot

No	Sampel	DNA Kit HiPure							
		A260 nm	A280 nm	A230 nm	Konsentra si 260	Konsentras i 280	Konsentra si 230	Kemurni an	Kemurnia n 260/230
1	O1	0.122	0.053	0.087	6.1	2.65	4.35	2.3	1.39
2	O1	0.119	0.051	0.090	5.9	2.55	4.5	2.3	1.32
3	O2	2.385	1.254	1.141	119.3	62.7	57.05	1.9	2.09
4	O2	2.448	1.302	1.236	122.4	65.1	61.8	1.88	1.98
5	O3	0.822	0.438	0.537	41.1	21.9	26.85	1.88	1.53
6	O3	0.785	0.401	0.413	39.3	20.0	20.05	1.96	1.9
7	O4	0.878	0.449	0.36	43.9	22.45	18	1.95	2.43
8	O4	0.928	0.497	0.49	46.4	24.85	24.5	1.87	1.87
X					53.05	67.43	27.51	2.02	1.81
s								0.1	0.4
s <sup>2</sup>								0.03	0.16

Selanjutnya, variasi konsentrasi DNA rumput odot yang beragam mulai dari 5,9 hingga 122,4 ng/ $\mu$ L. Nilai rata-rata konsentrasi DNA rumput odot dengan menggunakan metode kit Hi Pure adalah 53,05 ng/ $\mu$ L (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah DNA yang diekstraksi cukup untuk berbagai aplikasi laboratorium, seperti PCR, yang umumnya membutuhkan konsentrasi antara 10-100 ng/reaksi. Meskipun konsentrasi DNA berada di bawah 100 ng/ $\mu$ L, nilai tersebut masih dianggap memadai untuk aplikasi tersebut. Kemurnian DNA yang dihasilkan juga sesuai dengan standar, dengan rasio A260/280 sebesar 2,02 yang menunjukkan DNA murni, sesuai dengan temuan Nicholl (1996). Rasio A260/230 sebesar 1,81 meskipun sedikit di bawah rentang ideal menurut William (1997), namun masih cukup baik untuk sebagian besar aplikasi molekuler. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa DNA yang diisolasi dari rumput odot cukup berkualitas dan kuantitasnya memadai untuk digunakan dalam penelitian molekuler selanjutnya.

Hasil elektroforesis genom rumput Odot, pita DNA pada sampel terlihat cukup jelas, namun ada sedikit "smear" yang menunjukkan adanya kontaminan dalam jumlah kecil. Pengukuran spektrofotometri menggunakan Nanodrop menunjukkan bahwa konsentrasi DNA dalam sampel rumput Odot sebesar 53,05 ng/ $\mu$ L, yang masuk dalam kategori konsentrasi sedang (Gambar 3). Meskipun demikian, nampak pada pita DNA terdapat sedikit "smear", konsentrasi DNA dalam sampel ini cukup tinggi untuk dianalisis lebih lanjut. Pola "smear" ini mungkin disebabkan oleh adanya sedikit protein atau RNA yang terisolasi bersama DNA. Penelitian oleh Zhang et al. (2015) menyebutkan bahwa bahkan sedikit kontaminan dapat

menyebabkan pola smear pada hasil elektroforesis DNA. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun konsentrasi DNA yang diisolasi cukup baik, pemurnian lebih lanjut mungkin diperlukan untuk menghilangkan kontaminan dan memastikan kualitas DNA yang lebih tinggi untuk analisis molekuler selanjutnya. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa DNA dalam sampel rumput Odot cukup murni meskipun terdapat sedikit kontaminan, dan jumlahnya memadai untuk digunakan dalam analisis molekuler selanjutnya.



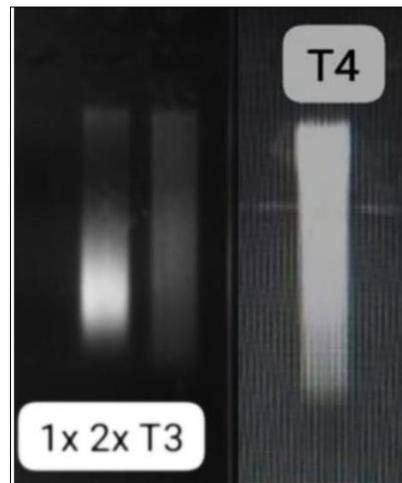
Gambar 3. Hasil Elektroforesis Genom Rumput Odot

Tabel 4. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Rumput Taiwan

No	Sampel	DNA Kit HiPure							
		A260 nm	A280 nm	A230 nm	Konsentra si 260	Konsentras i 280	Konsentra si 230	Kemurni an	Kemurnia n 260/230
1	T1	2.608	1.389	1.402	130.4	2.65	70.1	1.88	1.86
2	T1	2.599	1.374	1.999	129.9	2.55	99.50	1.89	1.93
3	T2	0.208	0.12	0.385	10.4	62.7	19.3	1.74	0.54
4	T2	0.104	0.05	0.18	5.2	65.1	9	2.08	0.57
5	T3	1.951	1.021	920	97.6	21.9	46	1.91	2.12
6	T3	1.98	1.026	1.01	99	20.0	50.5	1.93	1.96
7	T4	3.12	1.677	1.633	156	22.45	81.65	1.86	1.91
8	T4	3.055	1.618	1.497	152.7	24.85	74.85	1.89	2.04
X					97.65	27.78	56.36	1.90	1.62
s								0.09	0.65
s <sup>2</sup>								0.00	0.43

Data pada Tabel 4 terlihat adanya variasi konsentrasi DNA rumput taiwan yang beragam mulai dari 5,2 hingga 156 ng/ $\mu$ L. Nilai rata-ran konsentrasi DNA rumput taiwan dengan menggunakan metode kit Hi Pure adalah 97,65 ng/ $\mu$ L. Hasil sampel konsentrasi DNA rumput taiwan menunjukkan rasio 260/280 yang umumnya baik, kecuali untuk sampel T2 yang menunjukkan variasi. Konsentrasi DNA bervariasi, dengan T2 menunjukkan konsentrasi yang sangat rendah, sementara T4 menunjukkan konsentrasi yang sangat tinggi, menandakan perbedaan dalam kualitas sampel. Perbedaan dalam metode ekstraksi, penggunaan reagen, dan kondisi laboratorium dapat mempengaruhi hasil akhir. Namun, rata-ran konsentrasi DNA adalah 97,65  $\mu$ g/mL, menunjukkan bahwa konsentrasi DNA tersebut masih memenuhi standar kualitas

yang baik. Menurut Innis dan Gelfand (1990), konsentrasi template DNA yang ideal untuk reaksi PCR berkisar antara 1 ng hingga 1 µg, tetapi konsentrasi optimal biasanya dalam rentang 10-100 ng/µL tergantung pada kompleksitas DNA dan ukuran target amplicon.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis Genom Rumput Taiwan

Selanjutnya, hasil sampel menunjukkan DNA yang relatif murni dengan rasio A260/A280 mendekati 1,8-2,0, dengan rata-rata kemurniannya sebesar 1,90. Namun, rasio A260/A230 menunjukkan nilai yang rendah, dengan rata-rata sebesar 1,62 (Gambar 4). Hal ini menunjukkan adanya kontaminasi oleh bahan organik atau garam. Kontaminasi garam dalam sampel DNA dapat mengakibatkan rendahnya kemurnian DNA, karena garam seperti guanidin thiocyanate dalam buffer pengikat menunjukkan absorbansi kuat pada 220–230 nm, yang mempengaruhi rasio A260/A230. Kontaminasi ini biasanya terjadi jika campuran buffer/lysate bersentuhan dengan area kolom atas selama transfer. Untuk menghindari kontaminasi, penting untuk memipet dengan hati-hati dan tidak memindahkan sampel secara tiba-tiba selama sentrifugasi. Dengan demikian, meskipun terdapat beberapa variasi dalam konsentrasi dan kontaminasi oleh bahan organik atau garam, DNA rumput taiwan yang diisolasi memiliki kualitas yang cukup baik dan kuantitas yang memadai untuk digunakan dalam penelitian molekuler lebih lanjut.

Pengecekan ulang atau pengulangan ekstraksi pada sampel yang bermasalah dapat dilakukan untuk memastikan data yang lebih valid dan andal. Sampel rumput Taiwan menunjukkan pita DNA yang cukup terang dan jelas, dengan sedikit atau bahkan tidak ada "smear". Ini menunjukkan bahwa sampel ini memiliki DNA dengan kemurnian yang tinggi dan sangat sedikit kontaminan. DNA dari sampel ini siap untuk digunakan dalam analisis molekuler lebih lanjut tanpa risiko besar adanya kontaminasi yang dapat mempengaruhi hasil analisis. Hal ini didukung oleh penelitian Miller dkk. (2016), yang menunjukkan bahwa DNA dengan rasio A260/A280 yang mendekati 1.8-2.0 dan rasio A260/A230 di atas 2.0 memiliki tingkat kemurnian yang tinggi dan bebas dari kontaminasi protein dan polisakarida.

Penelitian telah menunjukkan bahwa pita DNA yang terang dan tebal pada gel elektroforesis berkorelasi dengan konsentrasi DNA yang tinggi. Menurut Green dan Sambrook (2012), DNA dengan konsentrasi tinggi menghasilkan pita yang lebih intens pada gel elektroforesis karena jumlah molekul DNA yang lebih banyak akan mengikat lebih banyak pewarna, sehingga pendaran ultraviolet akan lebih terang. Selain itu, penelitian oleh Shen dkk. (2018) mendukung bahwa pita DNA yang lebih terang pada gel elektroforesis mengindikasikan keberhasilan proses pemisahan DNA, di mana konsentrasi yang tinggi memungkinkan

visualisasi yang lebih jelas dan intens dari fragmen DNA pada ukuran tertentu. Dalam konteks ini, hasil elektroforesis genom rumput taiwan dengan pita pada posisi 5000 BP yang terang dan tebal mengindikasikan bahwa konsentrasi DNA yang tinggi telah tercapai, sesuai dengan pengukuran spektrofotometri Nanodrop.

Visualisasi pita yang terang ini menunjukkan kualitas DNA yang baik, dengan integritas yang terjaga dan minim kontaminan. Jika pita ini terlihat jelas dan terdefinisi dengan baik tanpa banyak smear, ini juga mengindikasikan kemurnian DNA yang baik. Dari hasil analisis gambar-gambar elektroforesis di atas, terdapat hubungan yang jelas antara konsentrasi DNA dan intensitas pita pada gel agarosa. Konsentrasi DNA yang tinggi menghasilkan pita yang lebih terang dan tebal, menunjukkan jumlah fragmen DNA yang besar dalam sampel. Sebaliknya, konsentrasi DNA yang rendah menghasilkan pita yang lebih tipis dan kurang terang, mengindikasikan jumlah fragmen DNA yang lebih sedikit.

### **KESIMPULAN**

Analisis spektrofotometri Nanodrop menunjukkan bahwa konsentrasi DNA bervariasi antar sampel, namun umumnya memadai untuk aplikasi laboratorium seperti PCR, sekuensing, dan analisis molekuler lainnya. HiPure Plant DNA Kit efektif dalam menghasilkan DNA berkonsentrasi tinggi dari berbagai jenis rumput, dengan hasil elektroforesis menunjukkan pita DNA yang jelas dan terdefinisi, serta minim kontaminan. Optimasi protokol ekstraksi, termasuk penyesuaian waktu inkubasi atau konsentrasi buffer, diharapkan dapat lebih meningkatkan konsentrasi dan kemurnian DNA yang dihasilkan.

### **KONFLIK KEPENTINGAN**

Penulis menjelaskan bahwa dalam proses penerbitan artikel ini tidak terdapat konflik kepentingan dengan pihak lain terkait data, analisis hasil penelitian, pendanaan, dan perbedaan pandangan di antara para penulis.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat atas segala dukungan dalam penyusunan artikel ilmiah ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Pimpinan dan Civitas Akademika Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, yang telah membantu dalam kegiatan akademis penulis.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Adijaya, N., Yuwono, B. S., & Suharjo, M. (2007). Rumput gajah mini (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) sebagai hijauan pakan ternak. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 12(2), 120-130.
- Arfian, R., Hasbi, M., & Sari, D. (2019). Nutritional quality of various forage plants for ruminants. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 24(2), 101-110.
- BET. (1997). Rumput Gajah Taiwan (*Pennisetum purpureum* cv. Taiwan). *Bulletin of Animal Husbandry*, 5(1), 30-35.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2009). *Microbiology: A Laboratory Manual*. Pearson/Benjamin Cummings.
- Chaiyabutr, N., & Juntanawat, W. (2021). Comparative nutritional value of Pakchong grass and other forage species for ruminants. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 21(2), 101-113.
- Cherdthong A, Rakwongrit D, Wachirapakorn C, Haitook T, Khantharin S, Tangmutthapatharakun G, Saising T. 2015. Effect of leucaena silage and napier Pakchong 1 silage supplementation on feed intake, rumen ecology and growth performance in Thai native cattle. *Khon Kaen Agriculture Journal* 43:1:484-490.

- Fatchiyah, T., Hudiyo, R., & Raharjo, A. (2011). Teknik dasar dalam biologi molekuler. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Gaffar, H. (2007). Teknik elektroforesis. *Jurnal Bioteknologi*, 3(2), 55-63.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2012). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (4th ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Green, R. C., Adams, S. L., & Carter, J. A. (2020). Next-generation sequencing technologies and their applications. *Genomics Research*, 31(2), 456-468.
- Hadi, R., Wahyu, P., & Koesmayadi, A. (2011). Hijauan pakan ternak ruminansia: Kualitas dan pengelolaan. *Jurnal Ilmu Ternak*, 13(1), 45-53.
- Hendarto, D., & Suwarno, E. (2013). Ketersediaan hijauan pakan dalam mendukung produksi ternak ruminansia. *Jurnal Agrikultura*, 16(2), 101-110.
- Herlinae, R. (2003). Nutrisi hijauan pakan untuk ternak ruminansia. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan*, 8(1), 57-62.
- Hidayati, N., Sulistyawati, N., & Sari, D. (2016). Teknik ekstraksi DNA menggunakan metode kit komersial. *Jurnal Bioteknologi*, 23(4), 190-197.
- Hikmatyar, M., Rohman, F., & Kurniawati, E. (2015). Evaluasi kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan spektrofotometer UV. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 8(3), 112-117.
- Innis, M. A., & Gelfand, D. H. (1990). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press.
- Jaelani, A. (2012). Pengaruh pemupukan terhadap produksi rumput gajah mini. *Jurnal Agrotropika*, 10(1), 75-82.
- Junsiri R, Suttibak S. 2016. Effect of reaction temperatures on yields and properties of bio-oil produced by fast pyrolysis of Napier Pak Chong 1 grass (*Pennisetum purpureum* Schum). *Journal of Materials Science and Applied Energy* 5 :1: 18-21.
- Kathiraser, T., & Mott, G. (2019). Teknik penanaman rumput pakchong. *Jurnal Agroforestri*, 5(2), 123-130.
- Kiyothong, K. (2014). Napier Pakchong: Development and utilization. *Journal of Livestock Science*, 8(3), 200-210.
- Kusumawati, D., Harsono, S., & Setiawan, B. (2018). Annual production and management practices of Pakchong grass in tropical regions. *Journal of Tropical Agriculture*, 46(2), 145-153.
- Lasamadi, E., Sudiyo, A., & Syamsu, J. A. (2013). Hijauan pakan ternak: Teknik pengolahan dan pemanfaatan. *Jurnal Teknologi Ternak*, 7(2), 99-110.
- Latham, K. R. B., Smith, A. M., & Green, R. C. (2018). Optimization of PCR conditions for amplification of specific DNA sequences. *Journal of Molecular Biology*, 430(4), 1234-1245.
- Liman, H., Nugroho, A., & Putra, W. (2021). High production levels and superior nutritional content of Pakchong grass compared to its progenitors. *Journal of Animal Feed Science*, 29(4), 456-463.
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, (63), e3998.
- Maftuchah, R., Rahmawati, E., & Mufidah, T. (2014). Efisiensi metode ekstraksi DNA dari daun tanaman jambu biji. *Jurnal Biologi*, 10(2), 78-85.
- Minarsih, T., Setiawan, B., & Suhartono, M. (2016). Rasio absorbansi sebagai indikator kemurnian DNA. *Jurnal Biologi Molekuler*, 22(1), 55-62.
- Ningsih, E., & Setiana, S. (2011). Peran hijauan pakan dalam meningkatkan produktivitas ternak ruminansia. *Jurnal Sains Peternakan*, 9(2), 85-95.
- Novitasari, D., Suprpto, H., & Yuliani, S. (2014). Pengaruh variasi konsentrasi gel agarosa terhadap hasil elektroforesis DNA. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 12(2), 45-50.

- Pediaa. (2023). Differences between agarose and polyacrylamide gels. Retrieved from <https://pediaa.com> (diakses pada 3 Juni 2024 pada pukul 16.42 WIB)
- Pitaksinsuk, T., Smith, J., & Rattanachomphu, S. (2010). High nutritional value and preference of *Pennisetum purpureum* cv. Thailand for ruminant and non-ruminant livestock. *Journal of Agricultural Science*, 15(2), 123-130.
- Promkhambut, A., Khemwong, R., & Samart, P. (2018). Evaluation of drought resistance and nutritional characteristics of Pakchong grass in comparison to common *Pennisetum* species. *Journal of Animal Science and Technology*, 60(2), 305-315.
- Purmawangsa, H., & Winiar, H. (2014). Produksi rumput gajah mini pada berbagai kondisi lingkungan. *Jurnal Agronomi*, 19(1), 67-74.
- Puttapong, N., & Sereenonchai, S. (2020). Planting techniques and growth management of Taiwan grass. *Forage Science*, 36(1), 45-55.
- Quantabio. (2023). Guide to DNA extraction protocols. Retrieved from <https://quantabio.com> (diakses pada 3 Juni 2024 pada pukul 16.42 WIB)
- Rini, S., Nugroho, H., & Widyawati, D. (2018). Kajian molekuler untuk perbaikan genetik hijauan pakan ternak. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 12(3), 98-107.
- Robert, J. D., Simon, A., & Micheal, T. (1999). Penggunaan isoamil alkohol dalam ekstraksi DNA. *Journal of Molecular Biology*, 25(4), 215-225.
- Rukmana, R. (2005). *Budidaya rumput gajah mini*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sakadoci, N. (2019). Teknik penanaman dan pemeliharaan rumput pakchong. *Journal of Agricultural Science*, 15(2), 170-180.
- Samarawickrama, R., Seneviratne, P., & Perera, S. (2018). Adaptasi rumput pakchong pada berbagai kondisi agroekologi. *Journal of Tropical Agriculture*, 11(1), 88-95.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sari, D., Nurhadi, N., & Wijayanto, M. (2020). Assessment of metabolizable energy content in various forage species. *Animal Feed Science and Technology*, 269, 114-124.
- Sarian, B. (2013). Renewable energy and high-quality forage from *Pennisetum purpureum* cv. Thailand. *Agricultural Research Journal*, 22(3), 345-351.
- Sarian, B. (2013). Rerumputan Pakchong sebagai sumber energi terbarukan. *Jurnal Sumber Daya Alam*, 8(2), 105-115.
- Shen, Y., Li, J., Zhang, D., Zhao, Y., & Hou, T. (2018). Recent advances in DNA detection techniques. *Trends in Analytical Chemistry*, 107, 213-223.
- Sirait, A., Sunaryo, S., & Riyadi, S. (2005). Konsumsi pakan ternak ruminansia. *Jurnal Ilmu Nutrisi Ternak*, 11(1), 33-42.
- Sirait, S. (2014). Kandungan nutrisi rumput gajah mini. *Jurnal Ilmu Peternakan*, 9(1), 115-123.
- Siregar, I. (1996). Analisis nutrisi rumput gajah Taiwan. *Jurnal Nutrisi dan Makanan Ternak*, 4(1), 55-65.
- Sirisopapong, S. (2015). Kandungan gizi rumput pakchong. *Journal of Agricultural Science*, 17(4), 230-240.
- Smith, A. M., Brown, J. D., & Johnson, P. L. (2016). Quantitative gel electrophoresis of DNA. *Analytical Biochemistry*, 505, 72-80.
- Somsiri, S., & Vivanpatarakij, P. (2015). Pengembangan rumput pakchong di Thailand. *Journal of Livestock Development*, 10(1), 150-160.
- Suherman, D., & Herdiawan, I. (2021). Karakteristik produktivitas dan pemanfaatan rumput gajah hibrida (*Pennisetum purpureum* cv. Thailand) sebagai hijauan pakan ternak. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 6(1), 37-45
- Suherman, R., & Herdiawan, H. (2021). Kandungan gizi rumput pakchong. *Jurnal Nutrisi Ternak*, 13(3), 200-210.
- Suryo, S. (2012). Prinsip dasar ekstraksi DNA. *Jurnal Bioteknologi*, 18(2), 77-85.

- Surzycki, S. (2000). Proses pengendapan DNA dengan etanol. *Journal of Molecular Techniques*, 22(3), 145-155.
- Suyitman, S. (2014). Produksi dan kualitas nutrisi rumput raja. *Jurnal Peternakan*, 19(1), 90-98.
- Suyitman, S., Setiawan, A., & Haryanto, B. (2003). Budidaya rumput raja untuk produksi pakan ternak. *Jurnal Agroindustri*, 8(1), 55-60.
- Syarifuddin, A. (2006). Morfologi dan produksi rumput gajah mini. *Jurnal Agrikultura*, 10(2), 65-75.
- Tan, S. C., & Yiap, B. C. (2009). DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 1-10.
- Tenriolu, A. (2016). Prosedur ekstraksi DNA dari tanaman. *Journal of Biotechnology*, 25(1), 98-105.
- Thermo Fisher Scientific - US. (n.d.). Gel electrophoresis for nucleic acid separation. Retrieved from <https://www.thermofisher.com> (diakses pada 3 Juni 2024 pada pukul 18.00 WIB)
- Triwibowo, E. (2008). Elektroforesis untuk analisis DNA. *Jurnal Kimia dan Bioteknologi*, 5(1), 20-25.
- Varma, A., Kumar, R., & Singh, B. (2007). Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi DNA. *Journal of Molecular Biology*, 30(2), 145-155.
- Vivikananda, M. (2014). Penggunaan elektroforesis dalam analisis genetik. *Jurnal Bioteknologi*, 6(2), 34-40.
- Winarno, F. G., & Agustinah, L. (2007). Prinsip dasar elektroforesis. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 1(1), 10-15.
- Yuliana, S., Nugroho, H., & Santoso, T. (2019). Digestibility and feeding value of Odot grass (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) for cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 251, 115-124.
- Yuwono, T. (2005). Elektroforesis gel dalam analisis biologi molekuler. *Jurnal Bioteknologi*, 2(3), 76-83.