

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Belimbing (*Averrhoa*)

Nama melayu untuk jenis tanaman buah dari keluarga Oxalidaceae dengan marga *Averrhoa* adalah belimbing (*Averrhoa*). Salah satu buah yang tidak jarang ditemukan di pasar tradisional atau di pinggir jalan adalah belimbing. Di Indonesia, belimbing juga memiliki harga pasar yang luas. Selain itu, dapat dikatakan bahwa belimbing banyak dikonsumsi dan disukai oleh masyarakat, yang menambah daya tariknya (Duwen, et al., 2021).

Belimbing adalah tanaman buah tropis yang biasa tumbuh di pekarangan rumah atau di halaman rumah. Tanaman buah ini baik menghiasi halaman rumah maupun melindunginya. Diperkirakan lebih dari 3 juta hektar luas pekarang di Indonesia dapat digunakan untuk menanam buah belimbing. Biasanya, tanaman belimbing ini harus disirami dengan hati-hati selama musim kemarau karena sengatan sinar matahari dapat menyebabkan daun belimbing ini rontok dan mengering dengan cepat (Lubis et al., 2020).

2.1.1 Jenis-Jenis Belimbing (*Averrhoa*)

Belimbing terbagi atas beberapa jenis diantaranya yaitu ;

a. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Belimbing wuluh merupakan buah yang berasal dari Amerika Selatan, tepatnya dari wilayah andes. Meskipun buah ini sekarang banyak ditemukan diberbagai belahan dunia, khususnya didaerah tropis dan sub-tropis, sejarahnya bermula dari tanah asalnya yang kaya akan budaya dan sejarah. Sejak ribuan tahun yang lalu, suku-suku pribumi di wilayah Andes telah mengenal dan memanfaatkan belimbing wuluh sebagai sumber makanan dan juga obat tradisional. Buah ini sangat dihargai tidak hanya karena rasanya yang unik dan

segar, tetapi juga karena manfaat kesehatan yang luas biasa. Seiring berjalannya waktu, belimbing wuluh menyebar ke berbagai belahan dunia melalui perdagangan dan migrasi. Buah ini akhirnya dikenal diberbagai benua menjadi bagian dari budidaya kuliner dan kesehatan di banyak negara (Tresno, 2023).

Perdu merupakan jenis pohon belimbing wuluh. Tanaman buah tropis ini, yang sering ditanam di pekarangan, dapat bertahan hidup di daerah dataran rendah hingga 500 meter di atas permukaan laut, meskipun tumbuh subur di lingkungan yang lembab. Tanaman buah ini baik menghiasi halaman rumah maupun melindunginya. Diperkirakan lebih dari 3 juta hektar luas pekarang Indonesia dapat digunakan untuk bertanam belimbing. Belimbing wuluh di beberapa daerah seperti daerah Sunda disebut dengan calincing; di daerah Jawa disebut belimbing wuluh; di daerah Madura disebut dengan bhalimbing bulu; di daerah Batak disebut dengan asom belimbing/ balimbingan; di daerah Bali disebut blimbing buluh; di daerah Aceh disebut selimeng; di daerah Gayo disebut selemeng; di daerah Lampung disebut balimbing; di daerah Flores disebut balimbeng; di daerah Bugis disebut celane; di daerah Ambon disebut takurela; di daerah Nias disebut malimbi; di daerah Minangkabau disebut balimbieng; di daerah Sangi disebut Belerang; dan di daerah Bima disebut limbi. Pada dasarnya belimbing memiliki banyak kegunaan dari masing-masing daerah mulai sebagai tanaman obat, sayuran dan juga sebagai buah, rasa yang asam yang menyegarkan yang dapat membuat makan menjadi segar dimasyarakat sekitar. Belimbing wuluh ini juga biasa diolah masyarakat sebagai asam wuluh yang membuat cita rasa dari masakan menjadi lebih segar dan menggugah selera, tetapi banyak buah belimbing wuluh tidak dibudidayakan dan diolah dengan semestinya, yang hanya sebatas untuk penyejuk pekarangan rumah dikarenakan buahnya yang masam dan kurang diminati masyarakat sekitar (Redaksi Agromedia, 2008).



Gambar 2.1. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)
(Sumber : *tribunnews.com*, 2021)

Klasifikasi Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Geraniales
Familia : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

Belimbing, yang menyegarkan dan kaya akan vitamin dan mineral, juga merupakan obat murah untuk hipertensi karena mengandung zat yang dapat menurunkan tekanan darah. Selain itu, buah ini juga menyediakan serat, yang sangat penting untuk pencernaan (Purwaningsih, 2008).

Belimbing wuluh merupakan tanaman semak atau pohon kecil yang dapat mencapai tinggi sekitar 2 hingga 4 meter. Pohonnya cenderung berdiri tegak dengan cabang-cabang yang menjulang, batang pohon ini dapat bercabang banyak, tergantung pada varietasnya. Daun belimbing wuluh memiliki bentuk oval dan bersusun berselang seling dibatanganya. Daun-daun ini memiliki warna hijau tua yang khas dan terkadang memiliki sentuhan warna merah atau ungu dibagian bawahnya. Bunga pada belimbing wuluh memiliki bentuk yang unik, bunganya biasa akan muncul dalam kelompok yang terdiri dari dua hingga tiga bunga diantaranya merah, orange, hingga kuning, tergantung pada varietasnya. Buah pada belimbing wuluh adalah yang paling mengesankan yang juga mengandung asam lemah . Buah ini memiliki bentuk yang bulat panjang dengan

ukuran 4 hingga 10 cm. Kulit buahnya dapat bervariasi dari warna merah, orange hingga kuning. Kulit yang tipis dan sedikit bersisik, mirip dengan belimbing. Daging buahnya berwarna putih dengan tekstur yang lembut dan banyak biji kecil. Aroma dan rasa dari buah belimbing memiliki aroma yang khas dengan rasa buahnya kombinasi antara rasa asam yang segar dan juga rasa manis yang lezat (Tresno, 2023).

Tanaman ini menghasilkan banyak buah setiap kali berbuah. Seringkali, rasa asam pada belimbing, yang disebabkan oleh asam oksalat dan asam sitrat, menyebabkannya jatuh ke tanah atau membusuk di pohon. Selain asam-asam ini, belimbing juga mengandung kalsium, kalium, vitamin C, flavonoid, saponin, tanin, dan glukosida. Meskipun mengandung banyak vitamin C, belimbing wuluh kurang disukai masyarakat karena rasanya yang masam. Orang jarang makan belimbing wuluh segar, tetapi mereka lebih banyak digunakan sebagai bumbu dalam masakan (Setiati & Yulianti, 2021).

Menurut Suryaningsih, S. (2016), salah satu jenis pohon yang dapat tumbuh hingga ketinggian 5–500 meter di atas permukaan laut adalah belimbing. Belimbing terkadang disebut belimbing sayur atau belimbing asam karena kandungan tanin, saponin, sulfur glukosa, asam firmat, peroksida, dan flavonoidnya yang tinggi. Belimbing juga memiliki biji pipih dan rasa asam.

Menurut Redaksi Agromedia (2008), menyatakan bahwa di antara sekian banyak manfaat kesehatan dari belimbing adalah kemampuannya untuk meredakan batuk, batuk rejan, kondisi punggung seperti asam urat, sariawan, hipertensi, diabetes melitus, demam, radang sumbu usus, sakit perut, gondok, bisul, meningkatkan produksi cairan empedu, menyembuhkan jerawat, dan mengobati ruam pada daerah kulit sensitif.

b. Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)

Belimbing manis sangat umum di daerah tropis dan sangat disukai orang karena rasanya yang segar dan harganya yang terjangkau. Konsumen masih suka belimbing, meskipun ada bahan yang membuatnya terasa kelat di lidah saat dimakan. Karena kandungan airnya yang tinggi, belimbing ini bahkan disebut sebagai buah yang sangat menyegarkan. Ini adalah alasan mengapa masyarakat masih menyukai perdagangan belimbing. Buah belimbing ini sangat dihargai karena sangat mudah dirawat. Selama musim kemarau, Anda biasanya harus rajin menyirami tanaman belimbing ini karena sengatan sinar matahari dapat menyebabkan daun belimbing mengering dan rontok dengan cepat. Jika daun belimbing mulai rimbun, Anda harus rajin memotongnya secara bertahap agar tetap menghasilkan buah yang baik (Lubis, *et al.*, 2020).

Beberapa orang menyebut belimbing manis ini dengan nama lain, seperti belimbing manis di (Minangkabau), belimbing legi di (Jawa), belimbing amis di (Sunda); bhalimbing manes di (Madura). haurela pasaki, tulela pasaki, malibi totuo di (Maluku), dan balirang di (Bugis). Pohon belimbing ini agak kecil dan hanya mencapai tinggi sekitar sepuluh meter. Batangnya tidak begitu besar, berwarna coklat muda, dengan garis tengah sekitar tiga puluh centimeter, dan percabangannya sedikit condong ke atas. Batang tanaman belimbing ini mengandung saponin, tanin, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, asam format, dan peroksidase. Daun tanaman belimbing ini juga mengandung tanin, sulfur, asam fosfat, peroksidase, kalsium oksalat, dan kalium sitrat. Belimbing manis menghilangkan sakit (analgesik), anti radang, dan diuretik, yang berguna untuk mengobati diabetes. Rematik dan sakit perut, atau parotitis, diobati menggunakan daunnya. Buahnya menyembuhkan berbagai kondisi termasuk batuk rejan, gusi berdarah, gigi berlubang, sariawan, jerawat, panu, hipertensi, kelumpuhan, dan iritasi usus. Bunga tanaman ini juga dapat digunakan untuk menyembuhkan sariawan dan batuk (Redaksi Agromedia, 2008).



Gambar 2.2. Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.)
(Sumber : *Kompas.com*, 2023)

Klasifikasi belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Geraniales
Familia : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa carambola* L.

Sebagian besar penulis percaya bahwa belimbing manis ini berasal dari Asia Tenggara, dan sekarang tumbuh di seluruh dunia, terutama di wilayah tropis yang lembab. Buahnya mengandung asam oksalat, kalium, dan vitamin A dan C. Tanaman belimbing sering dibudidayakan di daerah rendah. Daun belimbing manis berbentuk cembung dan berwarna hijau tua. Daun berbentuk oval, yang saling berhadapan, memiliki pangkal membulat di bagian atas dan melebar ke samping. Daunnya memiliki ujung dan tepi yang asimetris dan meruncing. Bunga merahnya memiliki cabang yang lebih padat. Buahnya dapat dipetik 65 hari setelah berbunga dan matang. Buahnya mengandung banyak air dan rasanya manis dan asam (Priadi & Cahyani, 2011).

Selain dikonsumsi secara langsung, belimbing manis dapat juga dimanfaatkan sebagai tanaman peneduh dan juga obat tradisional. Tanaman belimbing manis ini berfungsi sebagai penyaring debu, mengatasi pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh berbagai kegiatan manusia dan dapat menyerap gas emisi kendaraan bermotor. Pada dasarnya belimbing memiliki

banyak manfaat yang tidak diketahui pada masyarakat Indonesia (Redaksi Agromedia, 2009).

c. Belimbing Sembiring (*Averrhoa carambola*)

Tanaman ini sangat banyak dijumpai di daerah Sumatera Utara, memiliki ciri-ciri yang mirip dengan varietas Filipina. Dengan kata lain belimbing sembiring ini diproduksi khusus di daerah Sumatera Utara karena sangat cocok dengan suhu dan kelembapan di daerah tersebut. Belimbing sembiring ini banyak diminati oleh masyarakat setempat karena memiliki rasa manis asam dan tanaman yang mudah untuk dibudidayakan dipekarangan rumah.

Belimbing menyukai tumbuh di daerah terbuka dan memperoleh sinar matahari yang cukup. Intensitas penyinaran minimal 7 jam per hari. Tanaman ini juga toleran terhadap naungan. Suhu 20 hingga 30 derajat Celsius sangat ideal untuk pertumbuhan belimbing. Curah hujan tahunan 2.000–2.500 mm dengan lima hingga enam bulan hujan dan empat hingga enam bulan kering sangat ideal. Hindari kecepatan angin yang berlebihan karena dapat menyebabkan buah atau bunga rontok. Pengobatan tradisional menggunakan belimbing untuk menyembuhkan sejumlah penyakit, seperti iritasi rektum, hipertensi, kelumpuhan, panu, dan masalah pencernaan. Belimbing dapat ditemukan di seluruh wilayah Indonesia. Daerah produsen belimbing yang sudah terkenal diantaranya yaitu Sumatera Utara dengan belimbing sembiring, Depok (Jawa Barat) dengan belimbing Dewi serta Blitar (Jawa Timur) varietas unggul belimbing kunir dan belimbing kapuri.



Gambar 2.3. Belimbing Sembiring (*Averrhoa carambola*)
(Sumber : Kompas.com,2022)

Klasifikasi Belimbing Sembiring (*Averrhoa carambola*)

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Geraniales
Familia : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa carambola*

Varietas Sembiring memiliki daun berwarna hijau tua dengan permukaan cekung, daun lebih kaku, bentuk daun bundar telur, dan pangkal daun runcing di bagian atas daun. Buah muda pohon berwarna hijau muda dan matang berwarna kuning menyala. Buah dapat mencapai diameter 10 cm dan tinggi 15 cm. Daging buah belimbing sembiring besar dan montok dengan rasa manis dan asam.

d. Belimbing Demak (*Averrhoa carambola* Cultivar Demak)

Belimbing Demak sangat populer di daerah Jawa Tengah, banyak pada setiap tempat di daerah ini. Pada dasarnya belimbing demak merupakan varietas yang unggul yang memiliki bentuk buah yang lonjong dan lebar memipih dengan daging yang tipis. Nama latin belimbing demak adalah *Averrhoa carambola* Cultivar Demak, dan varietas baru belimbing ini berasal dari kabupaten Demak.



Gambar 2.4. Belimbing Demak (*Averrhoa carambola* cultivar Demak)
(Sumber : Kompas.com 2022)

Klasifikasi Belimbing Demak (*Averrhoa carambola* cultivar Demak)

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Ordo : Geraniales
 Familia : Oxalidaceae
 Genus : *Averrhoa*
 Spesies : *Averrhoa carambola* cultivar Demak

Daun belimbing demak berwarna hijau tua dengan permukaan cekung, daun tipis, duduk berhadapan, bentuk daun bundar telur, pangkal membulat di atas, dan ujung meruncing. Belimbing demak hijau muda, dengan cita rasa manis asam, kurang renyah, dan banyak air. Buahnya matang berwarna putih kekuningan.

2.2 Analisis DNA

Identitas dan stabilitas materi genetik dapat ditentukan oleh sistem menggunakan analisis DNA. Penanda DNA digunakan dalam analisis sidik jari DNA, yang juga disebut sidik jari DNA. Random *Amplified Polymorphic* DNA (RAPD) adalah salah satu dari beberapa pendekatan penanda DNA yang telah digunakan untuk penyelidikan sidik jari DNA tanaman. Jenis penanda DNA yang dipilih bergantung pada tujuan analisis, sumber daya yang tersedia, dan tingkat presisi yang dibutuhkan. Sebuah protokol ekstraksi DNA diperlukan sebelum sidik

jari DNA dilakukan, yang menghasilkan DNA dengan kuantitas dan kualitas yang memadai (Rahmadi et al., 2020).

2.3 Perbandingan Teknik DNA Barcode, Mikrosatelit, RFLP, CAPS

- a. **DNA Barcode**, Pada prinsipnya berguna untuk mengidentifikasi serpihan atau fragmen spesies. Berdasarkan prinsip ini, DNA Barcode juga dapat mendeteksi bahan asing (hewan atau tanaman) yang ditambahkan ke dalam makanan yang telah diolah, dan juga dapat dengan cepat mengidentifikasi spesies yang digunakan sebagai bahan dasar dalam produk komersil. DNA barcode merupakan suatu metode untuk pengidentifikasian spesies dengan menggunakan urutan gen pendek dari genom organisme. Aplikasi DNA barcode antara lain untuk mengidentifikasi sebagai organisme sampai tingkat spesies, mengidentifikasi suatu spesies yang mirip secara morfologi (Nafiu, M., A. 2020).
- b. **Mikrosatelit**, adalah utasan DNA yang terdiri dari 8–8 pasang pengulangan basa. Daerah-daerah yang mengapit mikrosatelit sering kali dipertahankan pada individu-individu yang termasuk dalam spesies yang sama. Akibatnya, primer yang melengkapi daerah-daerah yang mengapit dapat dibuat untuk memperluas mikrosatelit. Mikrosatelit digunakan secara luas dalam studi genetika tumbuhan, menggunakan pendekatan genotipe dengan hasil rendah dan tinggi. Termotivasi oleh pentingnya urutan ini selama aspek defenisi, karakteritik dan fungsi biologis, mikrosatelit ditemukan pada prokariota dan eukariota. Mikrosatelit tersebar luas diseluruh genom ditemukan sangat tidak acak dan sangat bervariasi diberbagai wilayah yang terdapat gen (Chaerani, et al., 2009).
- c. **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)** yang melibatkan potongan sekuens DNA dengan enzim restriksi, adalah metode yang umum digunakan untuk mengidentifikasi genotipe. Fragmen DNA yang dihasilkan dari restriksi dipisahkan melalui elektroforesis, dan kemudian divisualisasikan melalui teknik Southern Blotting. Metode RFLP menemukan mutasi dan polimorfisme dalam sejarah evolusi populasi manusia (garis

keturunan/silsilah). Dengan memotong urutan nukleotida tertentu di berbagai titik, enzim restriksi digunakan dalam analisis RFLP untuk membuat fragmen dengan panjang yang bervariasi (Khaira et al., 2022).

- d. ***Cleaved Amplified Polymorphism Sequences (CAPS)*** yang menggunakan primer universal untuk mengidentifikasi mitokondria DNA, menunjukkan keberhasilan dengan adanya perbedaan antara tanaman fusan dan tetua. Analisis CAPS adalah teknik untuk mengidentifikasi pewarisan sitoplasmik pada hibrid somatik yang sangat terbuksi pada tanaman tingkat tinggi. Teknik ini membedakan tanaman yang lebih tua dari tanaman yang telah mengalami beberapa prosedur yang menghasilkan tanaman tanpa biji. Sampai saat ini, banyak tanaman yang memiliki sifat tanpa biji telah diproduksi melalui berbagai metode pemuliaan konvensional (Setyawan et al., 2014).

2.4 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Teknik RAPD ini mengamplifikasi sekuen DNA genom secara acak menggunakan sekuen primer pendek. Panjang primer biasanya sepuluh basa, dan berbagai perusahaan menjualnya dalam kit. Fragment DNA diamplifikasi dengan mesin PCR yang menggunakan suhu annealing rendah (35–40 OC). Jika suhu annealing tepat, primer akan menempel di tempat-tempat tertentu di mana sekuennya bergabung dengan sekuen DNA secara acak. Gel agarose digunakan untuk memisahkan produk amplifikasi, yang biasanya berukuran antara 0,5 dan 5 kb. Pewarnaan ultraviolet dengan etidium bromide dapat digunakan untuk mengidentifikasi pola pita dan memastikan apakah ada atau tidak pita. Menurut Weising et al. (2005), insersi fragmen DNA yang signifikan di antara tempat penempelan primer adalah faktor teoritis yang bertanggung jawab atas polimorfisme RAPD.

Penanda RAPD dominan pada fragmen DNA yang dihasilkan, sehingga tidak mungkin membedakan antara genotipe homozigot (AA) dan heterozigot (Aa). Individu yang tidak memiliki pita menunjukkan genotipe resesif (aa). Matrik biner yang dibuat melalui amplifikasi fragmen DNA yang menunjukkan kehadiran pita

"1" dan ketidakhadiran pita "0". Manfaat utama penanda RAPD adalah kemudahan penggunaan dan kecepatannya, tidak bergantung pada informasi urutan DNA, penerapannya yang luas, jumlah sampel DNA yang dibutuhkan sedikit, ketersediaan primer secara komersial, dan tidak adanya komponen radioaktif (Zulfahmi, 2013).

Teknik RAPD pada dasarnya tidak memerlukan pelacak DNA atau informasi tentang sekuens DNA yang dilacak. Metodenya sederhana, dapat dilakukan secara maksimal untuk contoh yang banyak, membutuhkan jumlah DNA yang relatif kecil, tidak menggunakan senyawa radioaktif, dan mampu menghasilkan polimorfisme lebih cepat. Teknik RAPD memiliki kelemahan, yaitu hasilnya terkadang tidak konsisten disebabkan oleh pengulangan hasil amplifikasi yang tidak selalu akurat dan seringkali tidak kontan, hanya secara acak daripada di daerah tertentu. Meskipun tingkat pengulangan yang rendah, kondisi PCR dapat dijaga (Aswidinnoor et al., 2002).

Menurut Anggereini (2008), menemukan penanda genetik untuk membedakan spesies terkait merupakan penggunaan analisis RAPD yang cepat dan efisien. Selain mengidentifikasi galur, spesies, populasi, dan berbagai organisme secara metodis, RAPD digunakan untuk membuat peta genetik. Populasi laboratorium yang secara morfologis identik dapat dibedakan menggunakan penanda RAPD. Pendekatan RAPD merupakan alat yang sangat baik untuk mempelajari fenomena genetik pada spesies yang tersebar luas. Ekologi molekuler dan penentuan identitas taksonomi adalah beberapa bidang ilmu di mana metode ini dapat diterapkan.

Dalam penelitiannya, Hidayat (2014) menyatakan bahwa penggunaan PCR dalam identifikasi diperlukan untuk mengatasi masalah simbiosis obligat, yang menyebabkan tumbuhan fungi tidak dapat dikulturkan jika tanaman inang tidak ada. Teknik PCR membuat genom DNA tersedia dalam jumlah yang cukup untuk kepentingan identifikasi.

Dalam penelitian Pharmawati & Vanesa (2016), konsentrasi DNA bervariasi dari 33-267 ng/l, dan fragmen polimorfisme rDNA dideteksi menggunakan RAPD. DNA diekstraksi dari daun kamboja dan dikeringkan pada gel silika setelah

dimurnikan menggunakan gel Nucleospin dan PCR Clean Up Kit. Berhasil mengaplikasi DNA tanaman Kamboja dengan reaksi PCR-RAPD primer UBC-127, UBC-25, dan OPH-06. Reaksi ini kemudian dapat digunakan untuk analisis lanjutan.

Syafaruddin et al. (2012) menemukan bahwa amplifikasi DNA dengan PCR dapat terjadi jika komplemen basa primer dengan urutan basa DNA cetakan tidak melebihi 5.000pb. Dari 25 primer PCR-RAPD yang digunakan untuk mengaplikasi 17 jambu, 24 memberikan pita DNA, 21 menunjukkan polimorfisme, dan tiga menunjukkan monomorfis.

2.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Menurut Solihin, *et al.*, (2018), menyatakan hibridisasi atau *anealing* (penempelan) yaitu mekanisme yang memungkinkan untai asam nukleat tunggal menempel secara selektif pada untai komplementernya (pasangan). Ketika DNA dipanaskan atau didenaturasi, untai gandanya terbelah. Untai yang terbelah akan terpengang sekali lagi jika pemanas dimatikan atau suhunya diturunkan. Prinsip dasar PCR adalah bahwa untai oligonukleotida menempel saat suhu PCR turun. Faktor-faktor seperti suhu, pH, larutan garam, dan lainnya mempengaruhi penempelan untai oligonukleotida. Saat ini, metode PCR telah berkembang dari metode PCR konvensional yang biasa digunakan hingga metode PCR yang dapat digunakan secara langsung untuk mengidentifikasi adanya mutasi dalam sampel. Jenis aplikasi yang akan digunakan menentukan metode PCR yang akan digunakan. Apakah itu sekuensing, rekayasa genetika, atau identifikasi molekuler.

Poerba dan Yuzammi (2008) menyatakan bahwa metode ini tidak sempurna dan memiliki kelemahan dalam konsistensi produk amplifikasi karena kondisi reaksi PCR membatasi ukuran pita dari 100 hingga 3000 bp, sehingga hanya fragmen komplemen DNA dalam rentang ukuran ini yang dapat diamplifikasi oleh sekuen DNA primer.

Pada dasarnya, PCR adalah metode yang menggunakan variasi suhu untuk memperbanyak molekul DNA dengan ukuran tertentu secara enzimatik. Kary Mullis adalah orang yang pertama kali menciptakan teknik ini pada tahun 1985.

PCR hanya membutuhkan waktu beberapa jam untuk mengaplikasikan segmen DNA sebanyak jutaan kali. Berikut ini penjelasan singkat tentang prinsip PCR: Denaturasi DNA terjadi antara 94 dan 95 derajat Celsius, mengubah molekul beruntai ganda menjadi untai tunggal. Diperlukan waktu sekitar 30 detik pada suhu 95 derajat Celsius atau 15 detik pada suhu 97 derajat Celsius untuk prosedur ini. Suhu denaturasi dapat dinaikkan jika DNA target memiliki konsentrasi nukleotida Guanin/Sitosin (G/C) yang tinggi. Meskipun denaturasi yang tidak tuntas dapat mempercepat proses, denaturasi yang berkepanjangan dapat mengganggu kemampuan enzim polimerase Taq untuk berfungsi. Hal ini berdampak signifikan pada keberhasilan PCR. Untuk memastikan molekul DNA target yang akan diamplifikasi terdenaturasi sepenuhnya, pradenaturasi sering dilakukan selama tiga hingga lima menit sebelum dimulainya siklus PCR. Untuk menghindari kesalahan annealing primer, suhu annealing dalam langkah PCR sangat penting. Karena waktu pengujiannya yang cepat dan temuan yang lebih sensitif dan spesifik, PCR dapat digunakan sebagai pendekatan tradisional untuk mengidentifikasi genom dari berbagai spesimen. Isolasi DNA, denaturasi DNA menjadi untai tunggal, annealing primer untuk sekuens tertentu, penyambungan siklus polymerase, dan pemanjangan primer melalui reaksi polimerisasi nukleotida adalah semua bagian umum dari pengujian PCR. Biasanya, pengujian dilakukan pada suhu 72 derajat Celcius. Ketiga langkah ini akan diulang. berapa banyak salinan DNA yang tersedia.

2.6 Elektroforesis



Gambar 2.5. Alat elektroforesis

(Sumber : *SlidePlayer.info* 2024)

Elektroforesis merupakan teknik yang menggunakan matriks pendukung berpori (phoresis) dan medan listrik (elektron) untuk memecah bagian-bagiannya. Teknik ini membagi molekul berdasarkan ukuran, bentuk, dan muatan DNA genom yang diekstraksi dari isolat. Sebelum dimasukkan ke dalam cetakan elektroforesis, campuran ini dipanaskan di atas plat panas dan diputar. Setelah itu, TBE buffer ditambahkan ke dalam cetakan elektroforesis. Gel agarose yang digunakan untuk DNA hasil isolasi adalah gel agarose 0,8%, untuk DNA hasil amplifikasi adalah 1% dan untuk hasil restriksi 2%. Dicampurkan 3 μ l DNA hasil isolasi dengan 1 μ l *loading dye*, lalu dimasukkan ke dalam sumuran dan marker sebanyak 3 μ l. DNA yang mengalami amplifikasi dan restriksi dimasukkan dalam 3 μ l ke dalam sumuran gel elektroforesis. Tegangan 60 V digunakan selama 70 menit untuk DNA yang mengalami isolasi, amplifikasi, dan restriksi. Transiluminator UV kemudian digunakan untuk melihat hasil elektroforesis. Gel agarosa pertama-tama direndam dalam etidium bromida selama lima belas menit. Aplikasi gel doc kemudian diluncurkan pada komputer desktop setelah gel ditempatkan ke dalam transiluminator UV dan PC. Tombol ultraviolet transiluminator UV ditekan. Komputer menyimpan hasil pembacaan sehingga dapat diperiksa (Runtunuwu, D., S. et al., 2011).

Prastio,et al., (2022), menyatakan elektroforesis dilakukan setelah tahap amplifikasi agar dapat mengetahui berat molekul DNA yang telah berhasil diamplifikasikan. Pada tahap elektroforesis, 2 μ l *loading dye* pengisi ditambahkan ke dalam sumuran gel agarose. Untuk membuat gel agarose, konsentrasi agarose

1% ditambahkan dengan (agarose 0,4g dan 40ml) larutan *buffer Tris-acetate-EDTA* sebanyak 4 μ l. Elektroforesis diatur pada tegangan 140 V. DNA ladder ukuran 1kb dimasukkan kedalam sumuran gel agarose untuk mengetahui panjang untai basa DNA target, dan UV transilluminator digunakan untuk memvisualisasikan pita DNA pada media gel agarose. Hasil visualisasi UV transilluminator kemudian didokumentasikan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi elektroforesis, proses pemisahan dengan elektroforesis sangat dipengaruhi oleh cara alat dioperasikan. Selain media pemisahan yang sudah jadi, sampel (sampel yang akan dipisahkan) merupakan elemen lain yang dapat memengaruhi prosedur. Ukuran, bentuk, dan kecepatan migrasi muatan molekul semuanya dipengaruhi secara signifikan oleh sampel. Konsentrasi muatan yang bermigrasi bergantung pada pH, dan jumlah muatan secara keseluruhan berkurang seiring dengan kecepatan migrasi. Semakin besar molekulnya, semakin banyak muatan yang dilepaskan karena ukuran molekulnya. Agar molekul-molekul dapat terpisah satu sama lain tanpa menimbulkan perubahan struktural, larutan penyangga dan molekul-molekul yang dipisahkan harus berinteraksi, dan pH harus dipilih dengan tepat. Cara ion-ion penyangga berinteraksi dengan zat yang diteliti harus dipertimbangkan saat memilih larutan penyangga. Pemisahan biasanya terjadi pada titik isolistrik, yaitu ketika pH suatu makromolekul bermuatan nol. Pada titik ini, apakah senyawa yang dipilih setidaknya tidak menyebabkan perubahan kimia atau struktur molekul yang akan diteliti, pemisahan biasanya terjadi. Kekuatan ion larutan buffer berkisar antara 0,05 dan 0,15 mol/L, dan biasanya diambil di antara kedua ekstremnya.

Pada kekuatan ionik yang tinggi, terjadi pita-pita yang tajam, tetapi produksi panas yang lebih tinggi dan pergerakan molekul yang lebih pendek), dan medan listrik (kekuatan ionik medan listrik pada 2-8 V/cm pada suhu ruang, dan kekuatan medan magnet pada 10V/cm dapat memberikan efek), dan medan listrik (sangat diperlukan sumber listrik yang stabil untuk menghasilkan aliran listrik dengan tegangan yang konstan). Ini juga menyebabkan hasil fragmentasi berubah. Salah satu cara senyawa terdenaturasi adalah pemanasan. Kelebihan elektroforesis pada voltase tinggi menghasilkan pemisahan yang sangat cepat, selain kekurangan

menggunakan tegangan tinggi. Sehingga senyawa-senyawa dengan berat molekul rendah akan mengalami proses difusi yang paling baik dipisahkan dalam kondisi elektroforesis tegangan tinggi (Harahap, 2018).

2.7 Kajian Al-Qur'an Terkait Penelitian

Terdapat banyak jenis tumbuhan yang memang diciptakan untuk menjadikan manusia berfikir bagaimana memanfaatkannya. Allah berfirman dalam surah Ar-Ra'd ayat 4 yaitu :

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَبَّتْ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ
وَوَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ
إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya : “ Dan di bumi ini terdapat bahagian - bahagian yang berdampingan, dan kebun – kebun anggur, tanaman – tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanam – tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya yang demikian ini terdapat tanda – tanda (kebesaran Allah SWT) bagi kaum yang berfikir.”

Di planet dengan gunung-gunung yang tegak dan sungai-sungai berkelok yang bermuara ke laut, terdapat beberapa wilayah di planet ini dengan tingkat kesuburan dan jarak yang berbeda-beda. Bagian-bagian tertentu cocok untuk pohon kurma yang bercabang dan tidak bercabang, sementara bagian-bagian lainnya lebih cocok untuk kebun anggur dan tanaman tertentu.

Fakta bahwa tanah di sekitarnya dan di dekatnya dengan tingkat kesuburan yang berbeda-beda merupakan kelanjutan dari indikasi kekuasaan Allah di bumi yang dijelaskan dalam ayat ini adalah wahyu dari ayat ini. Sementara beberapa tanah bersifat lunak dan keras, yang lain sangat subur dan dapat mendukung semua jenis tanaman; namun yang lain hanya dapat mendukung pohon-pohon besar dan tidak baik untuk tanaman sekunder. Ada kebun anggur, tanaman palawija, dan pohon bercabang dan tidak bercabang di bumi. Meskipun semuanya disiram dengan

air yang sama, mereka menghasilkan buah dengan berbagai rasa, seperti tebu yang manis, jeruk yang manis dan masam, paria yang pahit, dan sebagainya. Bentuk, rasa, dan bau tanaman dipilih oleh Allah. Bagi mereka yang berpikir, tanda-tanda itu menunjukkan kekuasaan Allah dan menjadi bukti untuk percaya.

Kajian saintis mengklaim bahwa kandungan kimiawi yang berbeda di dalam tanaman atau buah menyebabkan rasanya berbeda. Dalam ilmu biokimia, kata "metabolit" mengacu pada zat atau molekul kimiawi ini. Rasa dari tanaman atau buah yang berbeda disebabkan oleh perbedaan jenis dan kuantitas metabolit ini. Hampir semua biji tanaman memiliki bentuk yang sama, atau dikenal sebagai morfologi yang sama, atau hampir sama, yaitu bulat atau sedikit lonjong. Ini adalah biji yang mengandung embrio tanaman (Encyclopedia Britannica, 1965, Vol.20, Seed, 273-275). Materi genetik (juga dikenal sebagai DNA, asam deoksiribo nukleat, atau asam deoksiribo nukleat) terkandung dalam embrio tanaman. Dengan kandungan DNA yang bervariasi, berbagai benih tanaman juga memiliki kandungan embrio yang bervariasi. Pada semua organisme hidup, termasuk tanaman, produksi metabolit dikendalikan oleh suatu zat yang disebut DNA. Akibatnya, tergantung pada materi genetik yang dikandungnya, benih yang ditanam dan diairi dengan air yang sama dapat menghasilkan berbagai rasa. Metabolit yang dihasilkan tanaman sebagai hasil dari materi genetik ini memengaruhi rasa buah atau tanaman.

Dalam ayat di atas juga dapat disebutkan bahwa tidak ada satu pun ciptaan Allah di dunia ini yang dibuat secara gratis. Ayat-ayat ini mengarahkan akal manusia ke fungsi pertama dari banyak tugas Allah SWT, yaitu menciptakan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, yang menunjukkan kebesaran Allah SWT. Segala sesuatu yang Dia ciptakan, termasuk keanekaragaman tumbuhan, tidaklah sia-sia dan pasti memiliki banyak manfaat untuk kita (Putriana, 2018).