

ARTIKEL_P3I_DINDA_APRILIANA -converted.pdf *by*

Submission date: 07-Sep-2021 08:48AM (UTC+0700)

Submission ID: 1642746922

File name: ARTIKEL_P3I_DINDA_APRILIANA-converted.pdf (378.47K)

Word count: 2514

Character count: 14469

SURAT PERNYATAAN SESUAI PANDUAN PENULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama Mahasiswa : Dinda Apriliana
NIM : 171335300010
Program Studi : D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas : Ilmu Kesehatan

MENYATAKAN bahwa, artikel ilmiah saya dengan rincian :

Judul : Perbandingan Hasil PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Menggunakan DNA
Template Hasil Isolasi Dengan Metode Column Dan Metode Resin
Kata Kunci : PCR, Isolasi DNA, Column, Resin

TELAH :

1. Disesuaikan dengan petunjuk penulisan dari jurnal ilmiah Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Berdasarkan surat keputusan Rektor UMSIDA tentang Standar Penulisan Karya Tulis Ilmiah dan plagiarisme di Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.
2. Lolos uji cek kesamaan sesuai ketentuan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

Serta BELUM PERNAH dan TIDAK AKAN dikirimkan ke jurnal ilmiah manapaun, tanpa seizin dari Pusat Pengembangan Publikasi Ilmiah UMSIDA.

Demikian pernyataan dari saya, untuk dipergunakan sebagaimana mestinya. Terima kasih

Mengetahui,

Dosen Pembimbing



(Miftahul Mushlih, S.Si.,M.Sc)

NIK.218619

Sidoarjo, 02 September 2021



(Dinda Apriliana)

NIM.171335300010



Comparison of PCR (Polymerase Chain Reaction) Results Using DNA Template Isolated by Column Method and Resin Method Perbandingan Hasil PCR (Polymerase Chain Reaction) Menggunakan DNA Template Hasil Isolasi dengan Metode Column dan Resin

Dinda Apriliana¹⁾, Miftahul Mushlih²⁾

^{1,2)}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Abstract. DNA isolation is a basic technique in molecular biology where DNA is separated from various unnecessary components. There are various methods of DNA isolation but the most commonly used methods are column and resin methods. The purpose of this study was to compare the results of PCR using DNA template isolated by column and resin methods. The research method used in this research is descriptive experimental using 8 whole blood samples. Samples were tested quantitatively with UV-VIS spectrophotometer and qualitatively using PCR. This research was conducted from February to April 2021. The results showed that based on quantitative DNA testing, DNA samples isolated using the column method had higher purity than the resin isolation method, which means that the resin method contained a lot of contamination. However, in terms of concentration, the resin method had a higher concentration than the column method and there was no significant difference in the purity and concentration of DNA if the sample was isolated using the column method and the resin method ($r=0.169$, $r=0.252$) after the dependent T test was performed. In the analysis using PCR, samples isolated by the column method showed a fairly clear band compared to the resin method.

Keywords –PCR; DNA Isolation; Column; Resin

Abstrak. Isolasi DNA merupakan suatu teknik dasar dalam biologi molekular dimana DNA akan dipisahkan dari berbagai komponen – komponen yang tidak diperlukan. Ada berbagai macam metode isolasi DNA namun metode yang paling umum digunakan adalah metode column dan resin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan hasil PCR menggunakan DNA template hasil isolasi dengan metode column dan resin. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif eksperimental menggunakan 8 sampel darah (whole blood). Sampel diuji secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-VIS dan secara kualitatif menggunakan PCR. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari hingga April 2021. Hasil penelitian diketahui bahwa berdasarkan uji kuantitatif DNA pada sampel DNA yang diisolasi dengan menggunakan metode column memiliki kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode isolasi metode resin yang artinya pada metode resin terdapat banyak kontaminasi. Namun, dalam hal konsentrasi metode resin mempunyai konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode column dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kemurnian dan konsentrasi DNA jika sampel diisolasi dengan metode column dan metode resin ($r=0.169$, $r=0.252$) setelah dilakukan uji T dependen. Pada analisis menggunakan PCR sampel yang diisolasi dengan metode column menunjukkan band yang cukup jelas dibandingkan dengan metode resin.

Kata Kunci –PCR; Isolasi DNA; Colum; Resin

I. PENDAHULUAN

Biologi molekular merupakan ilmu yang mempelajari hal – hal yang berkaitan dengan aktivitas biologi pada level molekular termasuk interaksi antara perbedaan tipe DNA, RNA, Protein, dan biosistesisnya sehingga dapat digunakan untuk identifikasi DNA, identifikasi gen, identifikasi penyakit, pengobatan penyakit dan pencegahan penyakit dengan skrining awal suatu penyakit[1]. Penggunaan biologi molekular sebagai alat untuk mendeteksi penyakit berkembang dengan pesat dari tahun ke tahun. Pada tahun 2019 data indeks menunjukkan transaksi diagnostik molekular secara global berkisar USD 9,2 miliar yang didominasi oleh penjualan reagen dan penggunaan alat PCR. Pada tahun 2020 transaksi diagnostik molekular telah menyentuh angka USD 10,1 miliar dimana angka ini diprediksikan akan terus mengalami kenaikan dengan pesat[2]. Dengan demikian, diagnostik molekular memainkan peran penting dalam kehidupan dimana kasus terbaru yang banyak menggunakan diagnostik molekular sebagai gold standart adalah diagnosa virus Covid-19 yang saat ini tengah mewabah diseluruh dunia[3].

Sebagai langkah awal dalam melakukan diagnostik molekular maka diperlukan adanya isolasi DNA.

Isolasi

DNA merupakan teknik dasar analisa molekular yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen lain seperti lipid, protein, dan polisakarida[4]. Pada dasarnya prinsip isolasi DNA meliputi lisis sel, ekstraksi, presipitasi dan purifikasi[5]. Ada beberapa metode dalam isolasi DNA, yang paling umum digunakan adalah metode CTAB, Column dan Chelex resin.

Maka dari itu, pada penelitian ini dilakukan perbandingan hasil PCR menggunakan DNA template hasil isolasi metode column dan resin untuk mengetahui metode isolasi DNA manakah yang paling efisien antara metode column dan resin menggunakan sampel *whole blood*.

I. METODE

Peneliti telah melakukan uji kelayakan etik ke komisi etik fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikat : 189/HRECC.FODM/IV/2021 . Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Februari sampai April 2021. Metode penelitian yang digunakan adalah deskripsi eksperimental. Penelitian ini menggunakan 8 sampel *whole blood* dimana 8 sampel tersebut diisolasi dengan menggunakan metode column dan metode resin. Penelitian ini dilakukan dengan cara *quota sampling* yaitu pengambilan sampel dari populasi jumlahnya ditetapkan oleh peneliti tanpa adanya syarat khusus. Sampel diuji secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-VIS dan secara kualitatif menggunakan PCR. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji T dependen dengan SPSS Versi 16.

II. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kuantifikasi pada tabel 1 menunjukkan bahwa kedelapan sampel memiliki kemurnian <1,8 sehingga dapat dikatakan terkontaminasi oleh protein. Kedelapan sampel juga menunjukkan konsentrsi > 50 ng/ μ l yang artinya sudah memenuhi syarat.Suatu sampel dapat dikatakan murni apabila nilai absorbansi 260 terhadap nilai absorbansi 280 berada diantara 1,8 -2,0. Jika rasio <1,8 maka DNA dikatakan terkontaminasi oleh protein dan apabila rasionya >2,0 maka dikatakan terkontaminasi RNA. Sedangkan syarat konsentrasinya 50 ng/ μ l[6].

Tabel 1. Hasil Spektrofotometer Metode Column

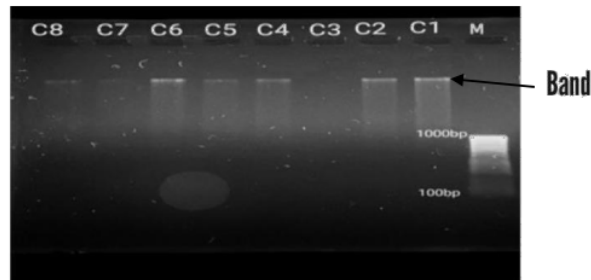
No	Kode sampel	A260	A280	Kemurnian A260/A280	Konsentrasi (ng/ μ l)
1	C1	0,535	0,376	1,425	240,722
2	C2	0,450	0,296	1,523	202,532
3	C3	0,426	0,282	1,514	191,846
4	C4	0,459	0,298	1,539	206,454
5	C5	0,456	0,306	1,490	205,355
6	C6	0,513	0,337	1,522	230,684
7	C7	0,500	0,325	1,537	244,950
8	C8	0,478	0,330	1,449	215,011

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa kedelapan sampel hasil isolasi metode resin memiliki kemurnian <1,8 sehingga dapat dikatakan terkontaminasi protein. Sedangkan untuk konsentasi sampel, kedelapan sampel memiliki konsentrasi >50 ng/ μ l sehingga dikatakan memenuhi syarat.

Pada uji statistik menggunakan uji T dependen dilakukan untuk melihat perbedaan indeks kemurnian serta konsentrasi DNA antar sampel. Sebelum dilakukan uji T dependen terlebih dahulu dilakukan uji normalitas. Berdasarkan uji normalitas pada konsentrasi DNA didapatkan hasil uji normalitas metode column dengan *p-value* sebesar 0,429 (>0,05) dan pada metode resin didapatkan hasil *p-value* sebesar 0,705 (>0,05) yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Setelah itu di lakukan uji T dependen dan didapatkan hasil untuk konsentrasi DNA dengan nilai *p-value* sebesar 0,169 (>0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi DNA yang diisolasi menggunakan metode column dan metode resin. Kemudian pada kemurnian DNA dilakukan uji normalitas metode column sehingga didapatkan *p-value* sebesar 0,106 (>0,05) dan pada resin didapatkan *p-value* sebesar 0,680 (>0,05) sehingga dapat dikatakan terdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji T dependen dan didapatkan nilai *p-value* sebesar 0,252 (>0,05) hal ini berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kemurnian DNA jika sampel diisolasi dengan metode column dan resin.

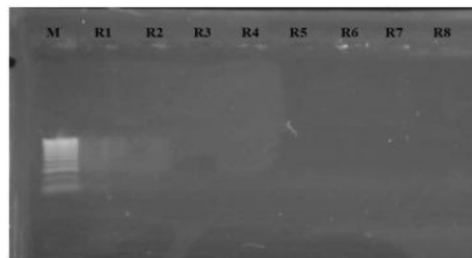
Tabel 2. Hasil Spektrofotometer Metode Resin

No	Kode sampel	A260	A280	Kemurnian A260/A280	Konsentrasi (ng/ μ l)
1	R1	0,622	0,493	1,26	279,9
3	R2	0,588	0,441	1,33	264,6
3	R3	0,557	0,438	1,27	250,65
4	R4	0,629	0,487	1,29	282,99
5	R5	0,608	0,495	1,22	273,6
6	R6	0,749	0,633	1,28	336,83
7	R7	0,652	0,526	1,24	293,19
8	R8	0,708	0,579	1,22	318,53

**Gambar 1.** Elektforesis DNA Genom Metode Column.

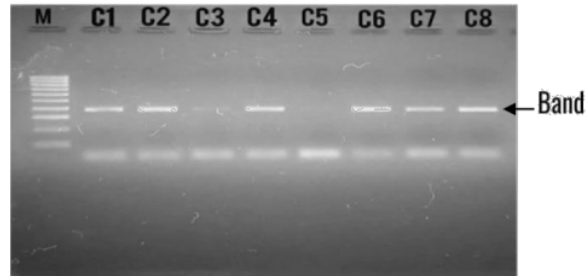
Keterangan : M (marker), C1 (column sampel ke-1), C2 (column sampel ke-2), C3 (column sampel ke-3), C4 (column sampel ke-4), C5 (column sampel ke-5), C6 (column sampel ke-6), C7 (column sampel ke-7), C8 (column sampel ke-8)

Berdasarkan gambar 1 hasil visualisasi menggunakan UV transiluminator pada DNA genom metode column menunjukkan adanya pita DNA dengan kode C1, C2, C4, C5, dan C6 dengan ketebalan pita cukup jelas, sampel dengan kode C7 dan C8 menunjukkan terbentuknya pita yang tipis dan pada sampel dengan kode C3 tidak terbentuk pita. Pita DNA yang terbentuk pada gel agarosa yang terlihat jelas maupun tipis menunjukkan jumlah DNA genom pada setiap sampel. Semakin tebal band maka semakin banyak DNA[7]. Tidak munculnya pita DNA pada gel agarosa kemungkinan terjadi karena kuantitas DNA yang diambil terlalu sedikit sehingga DNA tidak terbaca[8]. Pada elektrofosis DNA genom dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya DNA, apabila terbentuk pita DNA maka dapat dilanjutkan ke tahap amplifikasi menggunakan PCR.

**Gambar 2.** Elektforesis DNA Genom Metode Resin.

Keterangan : M (marker), R1 (resin sampel ke-1), R2 (resin sampel ke-2), R3 (resin sampel ke-3), R4 (resin sampel ke-4), R5 (resin sampel ke-5), R6 (resin sampel ke-6), R7 (resin sampel ke-7), R8 (resin sampel ke-8).

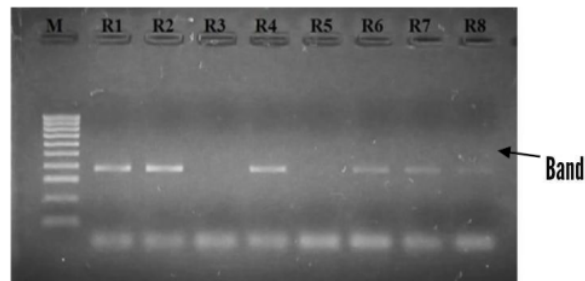
Berdasarkan gambar 2 hasil visualisasi menggunakan UV transiluminator pada DNA genom metode resin menunjukkan tidak adanya pita DNA dengan kode R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 dan R8. Hal ini kemungkinan dikarenakan jumlah DNA yang sangat sedikit sehingga tidak terbaca pada elektroforesis gel agrosa[9].



Gambar 3. Hasil elektroforesis produk PCR Metode Column.

1 Keterangan: M (marker ladder) 100 bp, C1 (column sampel ke-1), C2 (column sampel ke-2), C3 (column sampel ke-3), C4 (column sampel ke-4), C5 (column sampel ke-5), C6 (column sampel ke-6), C7 (column sampel ke-7), C8 (column sampel ke-8).

Berdasarkan gambar 3 hasil visualisasi menggunakan UV transiluminator pada produk PCR yang menggunakan metode column menunjukkan adanya pita DNA dengan kode C1, C2, C4, C6, C7 dan C8 dengan ketebalan pita yang cukup tebal dan jelas. Hasil yang cukup tebal dan jelas yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Marwayana pada tahun 2015 dimana pada metode column menggunakan membrane silika untuk berikatan dengan DNA sehingga menjadikan metode ini mempunyai kemurnian yang lebih tinggi sehingga metode ini menjadi lebih optimal. Akan tetapi pada sampel dengan kode C3 dan C5 tidak terbentuk pita dan tidak munculnya pita DNA pada kode sampel C3 dan C5 kemungkinan diakibatkan oleh kurangnya kuantitas DNA yang terambil saat proses persiapan amplifikasi DNA menggunakan PCR sehingga mempengaruhi hasil PCR.



Gambar 4. Hasil elektroforesis produk PCR Metode Resin.

Keterangan: M (marker ladder) 100 bp, R1 (resin sampel ke-1), R2 (resin sampel ke-2), R3 (resin sampel ke-3), R4 (resin sampel ke-4), R5 (resin sampel ke-5), R6 (resin sampel ke-6), R7 (resin sampel ke-7), R8 (resin sampel ke-8).

Berdasarkan gambar 4 hasil visualisasi menggunakan UV transiluminator pada produk PCR yang menggunakan metode resin menunjukkan adanya pita DNA dengan kode R1, R2, R4, R6, R7 dan R8 dengan ketebalan pita yang tipis.

Hasil ketebalan pita yang tipis kemungkinan berkaitan dengan proses isolasi yang menggunakan metode resin dimana metode ini memiliki kelemahan diantaranya adalah jumlah DNA yang dihasilkan cukup sedikit serta adanya

tahap pemanasan selama proses ekstraksi sehingga struktur rantai ganda DNA (denaturasi) yang dihasilkan menjadi rusak[9]. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sutrisno et al. pada tahun 2013 dimana ia melakukan identifikasi *bite marks* dengan isolasi DNA metode resin dan hasilnya terbentuknya pita tipis pada agarosa dengan konsentrasi rata-rata 52,6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Sedangkan pada sampel dengan kode R3 dan R5 tidak terbentuk pita kemungkinan terjadi karena terlarutnya *chelating agent* yang dipakai pada metode resin. Bahan *chelating agent* mempunyai sifat yang dapat mengikat ion-ion Mg^{2+} yang mempunyai fungsi sebagai kofaktor dari enzim taq polymerase yang diperlukan pada proses amplifikasi PCR. Kinerja tag polymerase akan tidak normal apabila masih terdapat bahan *chelating resin* masih terdapat pada larutan DNA. Selain itu *chelating resin* atau *Chelex* mempunyai sifat yang dapat merusak protein atau *protein denaturant*. Padahal enzim taq polymerase itu sendiri adalah sejenis protein yang berfungsi sebagai enzim katalis dalam proses PCR. Taq polymerase yang telah mengalami kerusakan akibat adanya *chelating resin*, dapat dipastikan bahwa kinerja dari PCR tidak akan optimal atau bahkan tidak dapat berlangsung. Sehingga tidak munculnya gambaran band atau pita dari DNA yang telah digandakan namun tidak munculnya pita DNA juga dapat disebabkan adanya kesalahan yang dilakukan oleh peneliti pada proses ekstraksi maupun PCR.

Metode resin sering digunakan pada sampel yang berupa darah. Selain adanya kelemahan pada metode resin ada pula beberapa kelebihan metode resin dimana prosesnya cepat serta resiko untuk terkontaminasi karena penggunaan banyak tabung dapat dihindari karena tahapan yang dilakukan lebih sederhana[11].

VII. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah berdasarkan uji kuantitatif DNA pada sampel DNA yang diisolasi dengan menggunakan metode column memiliki kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode isolasi metode resin yang artinya pada metode resin terdapat banyak kontaminasi. Namun, dalam hal konsentrasi metode resin mempunyai konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode column dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kemurnian dan konsentrasi DNA jika sampel diisolasi dengan metode column dan metode resin ($r=0.169$, $r=0.252$) setelah dilakukan uji T dependen. Pada analisis menggunakan PCR sampel yang diisolasi dengan metode column menunjukkan band yang cukup jelas dibandingkan dengan metode resin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing, subjek penelitian dan pihak-pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

REFERENSI

- [1] Wahyudi, I. A. (2015). Resensi Biologi Molekular adalah Ilmu yang Menyenangkan dan Mudah. *Jurnal Teknosains*, 4(2), 192–193. <https://doi.org/10.22146/teknosains.7973>
- [2] Research, G. V. (2020). *Molecular Diagnostics Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product (Instruments, Reagents), by Test Location, by Technology, by Application, by Region, and Segment Forecasts, 2020 - 2027*.
- [3] Agustina, A. S., & Fajrunni, R. (2020). Perbandingan Metode RT-PCR dan Tes Rapid Antibodi Untuk Deteksi COVID-19 oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome* (droplet) dari hidung atau mulut , yang *Reverse Transcription-Polymerase Reaction* (RT-PCR) sebagai gold standard diagnosis infeksi SA. *Jurnal Kesehatan Manarang*, 6, 47–54. Retrieved from <http://jurnal.poltekkesmamaju.ac.id/index.php/m>
- [4] Hariyadi, S., Narulita, E., & Rais, M. A. (2012). Perbandingan Metode Lisis Jaringan Hewan dalam Proses Isolasi DNA Genom pada Organ Liver Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). 15, 689–692.
- [5] Liana, H. A. (2017). Isolasi DNA *Corella.sp.* Dengan Metode CTAB DAN Identifikasi Sikuen 18S rDNA. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- [6] Iknan, siti asriani. (2020). studi kasus: analisa mutasi gen TCF7L2 (Trancription Factor 7 Like 2) pada keluarga penderita diabetes mellitus tipe 2 kecamatan tanggulangin, kabupaten

- [7] Pambudiono, A., Suarsin, E., Amin, M. (2016). Isolasi DNA Genom Bakteri Potensial Pengkelat Logam Berat Kadmium dari Limbah Cair Penampungan Agar. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek*
- [8] Marwayana, O. N. (2015). Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari Sampel Jaringan Otot. *Oseana*, 15(2), 1–9.
- [9] Philliphs, K., McCallum, & Welch, L. (2012). A Comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100 and the QIAGEN DNA investigation kit (manual and automated). <http://pubmed.ncbi.nlm>
- [10] Ratnasari, Y. A., & Faridah, I. N. (2019). Otimasi Metode Isolasi Dna Sampel Fta Cards Menggunakan Purelink® Genomic Dna Kits Dan Chelex-100 Optimization of Fta Cards Sample Dna Isolation Method Using Purelink® Genomic Dna Kits and. *Bachelor Thesis*, (1). Retrieved from <http://eprints.uad.ac.id/id/eprint/14764>

ARTIKEL_P3I_DINDA_APRILIANA-converted.pdf

ORIGINALITY REPORT

8%

SIMILARITY INDEX

10%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

repository.unair.ac.id

Internet Source

5%

2

eprints.uad.ac.id

Internet Source

2%

3

tbmxc.com.au

Internet Source

2%

Exclude quotes On

Exclude matches < 2%

Exclude bibliography On