

# Liah Dwi

*by*

---

**Submission date:** 06-Sep-2021 12:30PM (UTC+0500)

**Submission ID:** 1642344184

**File name:** jurnal\_p3i\_liah\_dwi\_jayanti.docx (358.48K)

**Word count:** 1698

**Character count:** 10412



## Comparison Of Quality DNA Template DNA Isolated By Resin Method With and Without Centrifugation Perbandingan Kualitas DNA Template Hasil Isolasi Metode Resin Dengan dan Tanpa Sentrifugasi

Liah Dwi Jayanti<sup>1)</sup>, Miftahul Mushlih<sup>2)</sup>

<sup>1,2)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

\*Email Penulis Korespondensi: [mif.mushlih@umsida.ac.id](mailto:mif.mushlih@umsida.ac.id)

**Abstract.** *The centrifugation process is able to separate blood into several components, including a buffy coat. Buffy coat contains white blood cells which have a cell nucleus which is the source of DNA. This study used a descriptive experimental method. The samples used were 16 samples of venous blood consists of 8 samples of wholeblood and 8 samples of centrifuge (buffycoat). DNA isolation used the resin method. The quantitative analysis was carried out with a UV-Vis spectrometer, and the average concentration and purity of DNA in the centrifuged sample was higher than that of the sample without centrifugation. So The results of this study are that the centrifugation (buffycoat) sample can be used for the DNA isolation process and has a higher purity value and concentration than samples without centrifugation (wholeblood).*

**Keywords** – Centrifugation; Buffy coat; DNA; Resin; Whole blood.

**ABSTRAK.** *Proses sentrifugasi mampu memisahkan darah menjadi beberapa komponen yang diantaranya buffy coat. Buffy coat mengandung sel darah putih yang mempunyai inti sel yang merupakan sumber DNA. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksperimental. Sampel yang digunakan ialah sebanyak 16 sampel darah vena terdiri dari 8 sampel tanpa sentrifugasi (wholeblood) dan 8 sampel sentrifugasi (buffycoat). Isolasi DNA menggunakan metode resin. Analisa kuantitatif dilakukan dengan spektrometer UV-Vis didapatkan hasil rata-rata konsentrasi serta kemurnian DNA pada sampel sentrifugasi lebih tinggi dibandingkan pada sampel tanpa sentrifugasi. Hasil dari penelitian ini ialah pada sampel sentrifugasi (buffycoat) dapat digunakan untuk proses isolasi DNA serta memiliki nilai kemurnian serta konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan sampel tanpa sentrifugasi (wholeblood).*

**Kata kunci** : Sentrifugasi, Buffy coat, DNA, Resin, Whole blood.

### I. PENDAHULUAN

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan asam nukleat yang menyusun informasi genetik pada makhluk hidup. DNA juga berperan dalam pengendali sifat dan ciri morfologi seperti pigmen kulit, warna serta bentuk rambut, struktur jari serta watak khusus seseorang. Tujuan utama isolasi DNA ialah untuk memisahkan DNA dari bahan lainnya semacam protein, lemak, dan karbohidrat. Kualitas DNA yang baik yang diperoleh dari hasil ekstraksi merupakan syarat dasar yang harus dipenuhi dalam studi molekuler [1]. Isolasi DNA mempunyai 3 prinsip yaitu: lisis sel, ekstraksi sel, serta presipitasi [2].

Pada proses sentrifugasi sampel darah akan menjadi 3 (tiga) bagian terpisah yaitu sel darah merah (eritrosit), band putih (buffy coat) yang terdiri dari sel darah putih (leukosit) dan trombosit (< 1%) serta plasma darah [3]. Buffy coat merupakan sel darah putih yang mengandung konsentrat DNA [4].

Metode resin merupakan metode yang menggunakan resin chelex yang ditambahkan secara langsung pada sampel atau bahan pemeriksaan. Resin Chelex dapat menjaga sampel dari enzim DNase yang aktif selama proses ekstraksi [5]. Metode Resin Chelex juga memiliki tahapan yang sederhana sehingga resiko untuk kontaminan lebih sedikit. Selain kelebihan, metode Resin Chelex juga mempunyai kekurangan diantaranya yaitu DNA atau RNA yang dihasilkan terlalu sedikit [6].

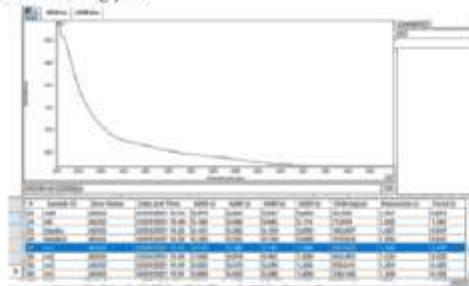
Pada riset sebelumnya menunjukkan bahwa nilai WBC atau sel darah putih berhubungan dengan konsentrasi DNA yang dihasilkan. Yakni semakin tinggi leukosit maka akan semakin besar konsentrasi DNA yang diperoleh [7]. Sehingga dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat mengkonfirmasi penggunaan sentrifugasi untuk meningkatkan jumlah dan kualitas DNA yang dihasilkan. Serta dapat mengoptimisasi analisa PCR pada analisis perbandingan kualitas DNA template hasil isolasi metode resin chelex dengan dan tanpa sentrifugasi.

## II. METODE

Penelitian ini bersifat deskriptif eksperimental dengan teknik random sampling, *ethical clearance* disetujui oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga nomor 186/HRECC.FODM/IV/2021. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular Universitas Muhammadiyah Sidoarjo Pada bulan Februari sampai April 2021 dengan menggunakan 16 sampel yang terdiri dari 8 sampel *whole blood* dan 8 sampel *buffy coat* serta menggunakan teknik random sampling. Subyek pada penelitian ini yaitu Mahasiswa Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sampel darah yang diperoleh kemudian dilakukan isolasi DNA dengan Metode Resin Chelex modifikasi. Kemudian dianalisa secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan secara kualitatif menggunakan Elektroforesis. Kemudian data yang diperoleh dianalisa menggunakan spss versi 16.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapati pada sampel tanpa sentrifugasi memiliki kemurnian rata-rata 1,29 dan konsentrasi sebesar 287,5 ng/ $\mu$ l. Dan pada sampel dengan sentrifugasi memiliki kemurnian rata-rata 1,29 serta konsentrasi DNA sebesar 316,7 ng/ $\mu$ l.



Gambar 1. Grafik pengukuran DNA menggunakan UV-Vis spektrofotometer

Berdasarkan pada Gambar 1. Sampel DNA tersebut memiliki nilai kemurnian diatas 1,1 dengan konsentrasi 232,9 ng/ $\mu$ l. Grafik tersebut memiliki pergeseran panjang gelombang ke arah batokromik (*Red Shift*) [8] Jika dilihat pada bentuk dari gelombang pengukuran pada grafik, sampel DNA tersebut terkontaminasi oleh EDTA [9]. Adanya kontaminasi tersebut mengakibatkan nilai konsentrasi pada DNA tidak menunjukkan nilai yang sebenarnya sehingga hal ini juga berpengaruh pada tidak munculnya *band* pada saat elektroforesis. Pemurnian DNA yang tidak sempurna menyebabkan DNA masih mengandung polisakarida, senyawa fenolik atau kontaminan lainnya, sehingga dengan meningkatnya nilai konsentrasi DNA maka kontaminan juga akan bertambah [10].

Uji statistik menggunakan uji Paired sampel *t test* dilakukan untuk melihat perbedaan indeks kemurnian serta konsentrasi DNA antar sampel. Didapatkan hasil untuk konsentrasi DNA dengan nilai *p-value* sebesar 0,353 ( $>0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi DNA sampel tanpa sentrifugasi dan sampel dengan sentrifugasi. Kemudian pada kemurnian DNA didapatkan nilai *p-value* sebesar 0,213 ( $>0,05$ ) hal ini berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kemurnian DNA sampel tanpa sentrifugasi dan sampel dengan sentrifugasi.



Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA Genom pada sampel tanpa sentrifugasi (*wholeblood*). (M: Marker 100 bp, Sampel: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 dan R8)

Pada gambar 2 menunjukkan hasil visualisasi UV Transilluminator pada sampel DNA genom tanpa sentrifugasi tidak menghasilkan pita. Hal ini bisa disebabkan karena pada metode resin memiliki kelemahan diantaranya DNA

dan RNA yang dihasilkan relatif sedikit, serta tahap pemanasan yang dilakukan selama proses ekstraksi dapat merusak struktur rantai ganda DNA yang dihasilkan [6]



**Gambar 3.** Hasil elektroforesis DNA Genom pada sampel dengan sentrifugasi (*buffycoat*). (M: Marker 100 bp, Sampel: RS1, RS2, RS3, RS4, RS5, RS6, RS7 dan RS8).

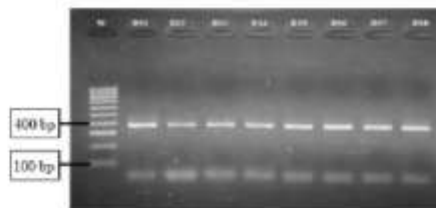
Visualisasi sampel DNA genom dengan sentrifugasi didapati pada semua sampel dengan kode RS1, RS2, RS3, RS4, RS5, RS6, RS7 dan RS8 tidak terbentuk pita DNA. Hal ini dapat diakibatkan karena pada isolasi DNA metode resin menghasilkan DNA atau RNA yang relatif sedikit [6] . sehingga perlu adanya amplifikasi DNA untuk digunakan proses pengujian selanjutnya.



**Gambar 4.** Hasil elektroforesis produk PCR pada sampel tanpa sentrifugasi (*wholeblood*). (M: Marker 100 bp, Sampel: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 dan R8).

Pada gambar 4 menunjukkan hasil visualisasi menggunakan UV Transilluminator pada sampel DNA tanpa sentrifugasi yang telah diamplifikasi dengan PCR menunjukkan adanya pita DNA yang terbentuk pada sampel dengan kode R1, R2, R4, R6, R7 serta R8 dengan ketebalan pita yang tipis. Namun pada sampel dengan kode R3 dan R4 tidak terbentuk pita. Hal ini dapat diakibatkan kurangnya kuantitas DNA yang terambil pada saat persiapan proses PCR. Menurut penelitian sebelumnya jika kuantitas DNA didalam ekstrak kurang, maka dapat mempengaruhi keberhasilan proses selanjutnya seperti halnya proses PCR [5].

Kuantitas DNA yang digunakan untuk proses PCR tidak boleh kurang dari 10 ng. Serta kekurangan lain pada metode ini yaitu dapat terlarutnya bahan *chelating agent* yang digunakan dalam metode resin chelex sehingga menyebabkan kurang optimalnya kinerja enzim *taq polymerase* pada proses PCR [11].



**Gambar 5.** Hasil elektroforesis produk PCR pada sampel dengan sentrifugasi (*buffycoat*). (M: Marker 100 bp, Sampel: RS1, RS2, RS3, RS4, RS5, RS6, RS7 dan RS8).

Pada gambar 5 tersebut sampel DNA hasil PCR yang sudah di sentrifus dapat diketahui bahwa pada semua sampel dengan kode RS1, RS2, RS3, RS4, RS5, RS6, RS7 dan RS8 memiliki pita yang cukup jelas. Hal ini dikarenakan pada sampel tersebut darah yang diisolasi hanya berupa *buffycoat* nya saja. Yang mana pada sampel *buffy coat* merupakan sebagian besar mengandung sel darah putih yang mempunyai inti sel tempat dimana DNA berada [4] .

Dalam penelitian sebelumnya Huang et al., mengatakan bahwa faktor yang mempengaruhi keberhasilan isolasi DNA darah ialah WBC, metode penyimpanan, kondisi sampel serta metode isolasi DNA [12] .

## VII. KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah pada sampel *Buffy coat* memiliki kemurnian serta konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan pada sampel DNA tanpa sentrifugasi *Whole blood*. Berdasarkan analisis uji Paired sampel T Test tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan (sig0,353).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Sidoarjo beserta pihak-pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

## REFERENSI

- [1] Syafaruddin, Randriani, E., & Santoso, T. J. (2011). Efektivitas dan efisiensi teknik isolasi dan purifikasi dna pada jambu mete. *J Ristri*, 2(2), 151–160.
- [2] Nurhayati, B., & Darmawati, S. (2017). *Biologi Sel dan Molekuler*. Kemenkes BPPSDM.
- [3] Darmawan, A., & Irawan, R. (2015). Mengenal CPOB Untuk Produk Darah. *Medical*, 3(2), 111–118. [zmaididarmawan@yahoo.com](mailto:zmaididarmawan@yahoo.com)
- [4] Siswanto, J. E., Berlian, T., Putricahya, E., Panggalo, L. V., & Yuniani, L. (2016). *Isolasi DNA pada Sampel Darah Tepi dan Buccal pada Bayi Penderita ROP: Perbandingan Hasil Uji Konsentrasi dan Indeks Kemurnian* (Vol. 18, Issue 4).
- [5] Marwayana, O. N. (2015). Ekstraksi asam deoksiribonukleat (DNA) dari sampel jaringan otot. *Oseana*, XL, 1–9.
- [6] Phillipps, 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>
- [7] Puspitasari, P., Rinata, E., Dijaya, R., Aprilia, S., Trikumalasari, D., Nur Azzah, L., Fanani, Q., Mushlih, M., Aliviameita, A., & Delta, D. (2019). Quality of Genom in Type II Diabetes Mellitus Patients in Viewed of Temperature, Storage Duration, Number of Leukocyte. *Medical Laboratory Technology Journal*, 5(2), 96. <https://doi.org/10.31964/mltj.v0i0.229>
- [8] Suharti, T. (2017). *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk penentuan struktur senyawa organik*. AURA CV, Anugrah Utama Raharja.
- [9] Mushlih, M. (2019). *BIOLOGI MOLEKULER "Aplikasi Dasar di Dunia Kesehatan"*. UMSIDA Press.
- [10] Pharmawati, M. (2009). Optimalisasi Ekstraksi Dna Dan Pcr-Rapd Pada *Grevillea Spp.* (Proteaceae). *Jurnal Biologi*, 13(1), 12–16.
- [11] Sutrisno, I. K., Arundina, I., & Sosiawan, A. (2013). *Identifikasi bite marks dengan ekstraksi DNA metode Chelex ( Bite marks identification with Chelex methods in DNA extraction )*. 46(2), 107–112.
- [12] Chen, W. C., Kerr, R., May, A., Ndlovu, B., Sobalisa, A., Duze, S. T., Joseph, L., Mathew, C. G., & Babb De Villiers, C. (2018). The Integrity and Yield of Genomic DNA Isolated from Whole Blood Following Long-Term Storage at -30°C. *Biopreservation and Biobanking*, 16(2), 106–113. <https://doi.org/10.1089/bio.2017.0050>

# Liah Dwi

## ORIGINALITY REPORT

14%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

7%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://eprints.uad.ac.id">eprints.uad.ac.id</a> Internet Source	4%
2	Submitted to National University of Singapore Student Paper	3%
3	<a href="http://repository.usd.ac.id">repository.usd.ac.id</a> Internet Source	2%
4	<a href="http://repository.unair.ac.id">repository.unair.ac.id</a> Internet Source	2%
5	Seung-Eock Kim, Se-Hyu Choi, Sang-Soo Ma. "Performance based design of steel arch bridges using practical inelastic nonlinear analysis", Journal of Constructional Steel Research, 2003 Publication	2%

Exclude quotes  Off

Exclude matches  < 2%

Exclude bibliography  Off