

# artikel Ip3i

*by aji cakra*

---

**Submission date:** 12-Sep-2021 06:40AM (UTC-0700)

**Submission ID:** 1587584069

**File name:** ARTIKEL\_AJI.docx (210.43K)

**Word count:** 1768

**Character count:** 10878



## Comparison The Quality Of Template Dna Isolated By Column Method With And Without Centrifugation

### Perbandingan Kualitas Dna Template Hasil Isolasi Metode Column Dengan Dan Tanpa Sentrifugasi

Aji cakra wardana<sup>1)</sup>, Miftahul muslih<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia  
Jl.Rame Pilang No.04 Wonoayu Sidoarjo

<sup>2)</sup> Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia  
Jl.Rame Pilang No.04 Wonoayu Sidoarjo

\*Email : Ajiic.ac@gmail.com

\*Email : mif.muslih@umsida.ac.id

**Abstract.** DNA isolation is the first step in molecular biology work. The quality of the DNA template is very important because it can affect the DNA amplification reaction. The centrifugation treatment on the sample is expected to produce alayer Buffy coat containing nuclear cells. This study aims to compare the quality of the DNA template isolated from the column method with and without centrifugation. This research used descriptive experimental method. The samples used were 16 samples with the division of 8 samples given centrifugation treatment and 8 samples without centrifugation. Column DNA isolation is a DNA isolation method that uses a silica membrane, where the silica membrane functions as a filter for DNA that is split from the cell. DNA isolation using the column method was carried out according to the standard protocol on the Geneaid DNA mini Kit Blood/Tissue. The concentration and purity of DNA were measured using UV-Vis Spectrophotometry at 260 nm and 280 nm. Visualization of DNA isolation results was carried out using 1% agarose gel. The results of measuring the quality of DNA samples using the column method with centrifugation showed better results with clearer visualization of DNA bands than samples without centrifugation. The results of the T dependent statistical test on both samples of p value < 0.05 showed that there was a significant difference in DNA quality with centrifuged and non-centrifuged treatment.

**Keywords** - DNA ; Centrifugation ; Buffy coat ; Whole blood ; Column method

**Abstrak.** Isolasi DNA merupakan tahapan awal dalam pengerjaan biologi molekuler. Kualitas DNA template sangatlah penting dikarenakan dapat mempengaruhi reaksi amplifikasi DNA. Pemberian perlakuan sentrifugasi pada sampel diharapkan dapat menghasilkan lapisan Buffy coat yang mengandung sel inti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas DNA template hasil isolasi metode column dengan dan tanpa sentrifugasi. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksperimental. Sampel yang digunakan sebanyak 16 sampel dengan pembagian 8 sampel diberikan perlakuan sentrifugasi dan 8 sampel tanpa sentrifugasi. Isolasi DNA metode column merupakan metode isolasi DNA yang menggunakan membran silika, dimana membran silika berfungsi sebagai filter bagi DNA yang terpecah dari sel. Isolasi DNA metode column dilakukan sesuai standar protokol pada Geneaid DNA mini Kit Blood/Tissue. Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada 260 nm dan 280 nm. Visualisasi hasil isolasi DNA dilakukan menggunakan 1% gel agarose. Hasil pengukuran kualitas sampel DNA menggunakan metode column dengan sentrifugasi menunjukkan hasil lebih baik dengan visualisasi pita DNA yang lebih jelas dibandingkan sampel tanpa sentrifugasi. Hasil uji statistik T dependent pada kedua sampel sebesar p value < 0,05 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kualitas DNA dengan perlakuan sentrifugasi dan tidak sentrifugasi.

**Kata Kunci** - DNA template ; Sentrifugasi ; Buffy coat ; Whole blood ; Metode column

## I. PENDAHULUAN

DNA Template (DNA cetakan) merupakan DNA yang diperoleh dari hasil isolasi DNA, DNA template digunakan sebagai cetakan awal dalam proses amplifikasi DNA. Kualitas DNA template sangatlah penting dikarenakan dapat mempengaruhi reaksi amplifikasi dan menghambat kerja enzim DNA polymerase sehingga mempersulit proses amplifikasi [1]. Proses isolasi DNA sebagai DNA template dapat berasal dari semua bahan biologis yang berinti sel. Darah merupakan bahan biologis yang paling sering digunakan dalam proses isolasi DNA [2].

Proses sentrifugasi pada sampel darah menyebabkan darah akan terpisah menjadi 3 (tiga) bagian yaitu sel darah merah (eritrosit), *buffy coat* (berisi sel darah putih dan trombosit), dan plasma darah. Sentrifugasi dilakukan untuk menghasilkan sampel *buffy coat* (sel darah putih) yang memiliki inti sel [3].

Metode Column merupakan metode isolasi DNA yang menggunakan membran silika sebagai filter DNA yang telah terpisah dari sel [4]. Dalam metode ini penggunaan kit dengan reagen khusus mampu meningkatkan kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan. Penggunaan enzim proteinase K dalam metode ini mampu melisis DNA dari dalam selnya, sehingga mempermudah proses isolasi DNA dan dengan pencucian yang berulang kali menggunakan reagen khusus dan sentrifugasi pada kecepatan tinggi mampu menghasilkan isolat DNA yang lebih murni. Namun metode ini memiliki kekurangan yaitu dalam waktu pengerjaannya yang relatif lebih lama [5].

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Puspitasari diketahui bahwa jumlah leukosit yang tinggi dalam darah dapat mempengaruhi kualitas DNA yang dihasilkan dalam proses isolasi DNA [6]. Sehingga pada penelitian ini dilakukan proses sentrifugasi pada sampel darah diharapkan dapat meningkatkan kualitas DNA yang dihasilkan.

## II. METODE

Penelitian ini bersifat deskriptif eksperimental dengan teknik pengambilan sampel menggunakan teknik random sampling. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Februari sampai April 2021 dengan menggunakan 16 sampel dengan 8 sampel berupa sampel *buffy coat* dan 8 sampel berupa *whole blood*. Sampel yang diperoleh dilakukan isolasi DNA dengan menggunakan metode Column yang telah dimodifikasi. Kemudian dianalisa secara kualitatif menggunakan Elektroforesis dan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kemudian data yang diperoleh dianalisa menggunakan spss versi 16. *ethical clearance* pada penelitian ini telah disetujui oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga nomor 209/HREC.FODM/IV/2021.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi DNA menggunakan metode Column dengan perlakuan sampel disentrifugasi dan tanpa sentrifugasi diukur kemurnian dan konsentrasinya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis, berdasarkan hasil uji menunjukkan sampel dengan perlakuan sentrifugasi memiliki indeks kemurnian DNA berkisar antara 1,52-1,62 dengan rata-rata konsentrasi DNA sebesar 268,1 ng/ $\mu$ L (tabel 1), sedangkan pada sampel tanpa perlakuan sentrifugasi indeks kemurnian DNA berkisar antara 1,42-1,53 dengan rata-rata konsentrasi DNA sebesar 214,6 ng/ $\mu$ L (tabel 1).

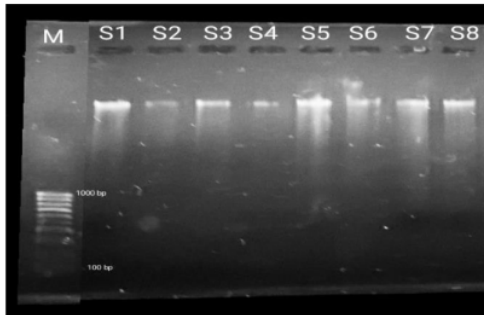
Tabel 1 Nilai kemurnian dan konsentrasi DNA

Tanpa perlakuan sentrifugasi				Dengan perlakuan sentrifugasi			
No	Kode Sampel	Kemurnian DNA A260/A28	Konsentrasi DNA ng/ $\mu$ L	No	Kode Sampel	Kemurnian DNA A260/A28	Konsentrasi DNA ng/ $\mu$ L
		0				0	
1	C1	1,42	240,7	9	S1	1,62	256,2
2	C2	1,52	202,5	10	S2	1,59	318,2
3	C3	1,51	191,8	11	S3	1,57	248,3
4	C4	1,53	206,4	12	S4	1,52	219,6
5	C5	1,49	205,3	13	S5	1,61	329,3
6	C6	1,52	230,6	14	S6	1,59	266,1
7	C7	1,53	224,9	15	S7	1,57	229,5
8	C8	1,44	215,0	16	S8	1,54	277,6

Kemurnian isolat DNA kurang dari 1,8 diindikasikan adanya kontaminan lain seperti protein, phenol atau lainnya yang ikut terserap kuat pada panjang gelombang 280 nm, sedangkan apabila nilai kemurnian DNA lebih tinggi dari 2,0 maka DNA dapat dikatakan terkontaminasi oleh RNA [7]. Kemurnian DNA sangat dipengaruhi oleh faktor teknis selama pengerjaan isolasi, salah satunya adalah pada proses pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah diinkubasi ke dalam tabung eppendorf yang baru dan proses pengeringan isolat. Pemindahan supernatan harus dilakukan secara teliti agar jaringan-jaringan sel yang telah hancur dan berada dibagian bawah tabung tidak ikut terambil, sedangkan pengeringan DNA yang berupa pelet pada tahapan akhir isolasi harus benar-benar kering dari larutan sebelumnya yang dipakai untuk purifikasi. Jika pengeringan kurang sempurna, maka larutan purifikasi

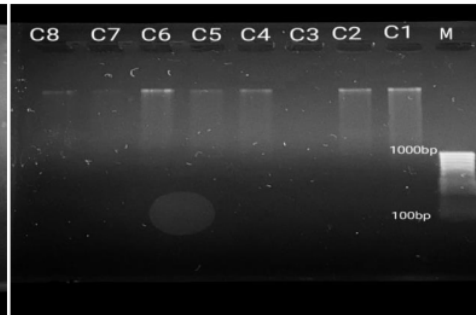
seperti alkohol dan etanol dapat menurunkan kemurnian DNA pada saat pengukuran spektrofotometer. Selain kemurnian DNA tinggi rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan dalam proses isolasi DNA juga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor lama waktu inkubasi, suhu yang digunakan, sumber DNA, merk kit yang digunakan serta keahlian peneliti dalam pengerjaan.

Uji statistik menggunakan uji dependent t test dilakukan untuk melihat perbedaan indeks kemurnian DNA dan konsentrasi DNA yang telah diisolasi. Berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa nilai *p-value* pada kemurnian DNA adalah sebesar 0,00 (*p value* < 0,05) sedangkan pada konsentrasi DNA diketahui *p-value* sebesar 0,01 (*p value* < 0,05), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kemurnian dan konsentrasi DNA yang dihasilkan pada sampel tanpa sentrifugasi (*Whole blood*) dan sampel dengan perlakuan sentrifugasi (*Buffy coat*). Dimana sampel dengan perlakuan sentrifugasi (*Buffy coat*) memiliki kemurnian dan konsentrasi DNA yang lebih tinggi dibandingkan sampel tanpa sentrifugasi (*Whole blood*).



Gambar 1 Hasil Visualisasi elektroforesis DNA sampel dengan sentrifugasi

Keteranagn : M = marker 100bp



Gambar 2 Hasil visualisasi elektroforesis DNA sampel tanpa sentrifugasi

Keteranagn : M = marker 100bp

Selain menggunakan spektrofotometri Uv-vis keberhasilan isolasi DNA dalam penelitian ini dibuktikan dengan pengujian secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose. Hasil visualisasi elektroforesis pada sampel dengan perlakuan sentrifugasi (*Buffy coat*) didapatkan visualisasi pita DNA yang terlihat jelas dan tebal pada sampel S1, S3, S5, S6, S7, dan S8, sedangkan pada sampel S2 dan S4 pita DNA terlihat tipis (Gambar 1). Pada sampel tanpa perlakuan sentrifugasi (*Whole blood*) didapatkan hasil visualisasi pita DNA C1, C2, C4, C5, C6, C7, dan C8 (Gambar 2) yang lebih tipis dibandingkan pada sampel dengan sentrifugasi (*Buffy coat*). Sedangkan pada sampel C3 hasil elektroforesis tidak menunjukkan adanya pita DNA yang terbentuk. Hasil visualisasi elektroforesis pada sampel dengan perlakuan sentrifugasi masih menunjukkan adanya smear pada keseluruhan sampel

Smear yang terbentuk dalam hasil elektroforesis ini menunjukkan bahwa DNA terdegradasi. Kondisi Sampel DNA yang terdegradasi disebabkan oleh paparan suhu yang merupakan salah satu faktor kerusakan DNA. Hal ini sesuai dengan hasil uji spektrofotometer yang menunjukkan kemurnian DNA yang rendah dengan konsentrasi DNA yang tinggi.

## VII. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kualitas DNA template hasil isolasi sampel dengan perlakuan sentrifugasi dan tanpa sentrifugasi memiliki perbedaan yang signifikan (*p value* < 0,05) dimana hasil kemurnian dan konsentrasi DNA sampel dengan perlakuan sentrifugasi lebih tinggi dibandingkan dengan sampel tanpa sentrifugasi. Hasil visualisasi elektroforesis menunjukkan sampel dengan perlakuan sentrifugasi (*buffy coat*) memiliki band yang lebih jelas dibandingkan sampel tanpa sentrifugasi (*whole blood*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Sidoarjo serta semua pihak yang turut membantu dalam proses pengerjaan penelitian ini.

#### REFERENSI

- [1] S. P. Prakoso, I. N. Wirajana, and I. W. Suarsa, "Amplifikasi Fragmen Gen 18s Rrna Pada DNA Metagenomik Madu Dengan Teknik PCR (Polymerase Chain Reaction)," *Indones. J. Leg. Forensic Sci.*, vol. 7, no. 3, p. 1, 2017, doi: 10.24843/ijlfs.2017.v07.i01.p03.
- [2] Fatchiyah, L. A. Estri, W. Sri, and R. Sri, *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga, 2011.
- [3] G. Nugraha, *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*, 2nd ed. Jakarta Timur: Trans Info Media, 2017.
- [4] Y. A. Ratnasari and I. N. Faridah, "Optimasi Metode Isolasi Dna Sampel Fta Cards Menggunakan Purelink<sup>®</sup> Genomic Dna Kits Dan Chelex-100 Optimization of Fta Cards Sample Dna Isolation Method Using Purelink<sup>®</sup> Genomic Dna Kits and," *Bachelor Thesis*, no. 1, 2019, [Online]. Available: <http://eprints.uad.ac.id/id/eprint/14764>.
- [5] O. N. Marwayana, "Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari Sampel Jaringan Otot," *Oseana*, vol. 15, no. 2, pp. 1–9, 2015.
- [6] P. Puspitasari *et al.*, "Quality of Genom in Type II Diabetes Mellitus Patients in Viewed of Temperature, Storage Duration, Number of Leukocyte," *Med. Lab. Technol. J.*, vol. 5, no. 2, p. 96, 2019, doi: 10.31964/mltj.v0i0.229.
- [7] M. Muslih, *Buku Ajar mata kuliah Biologi Molekuler. Aplikasi dasar didunia kesehatan*. Sidoarjo: UMSIDA Press, 2019.

# artikel lp3i

---

## ORIGINALITY REPORT

---

8%

SIMILARITY INDEX

8%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

1

[etheses.uin-malang.ac.id](http://etheses.uin-malang.ac.id)

Internet Source

5%

---

2

[eprints.uad.ac.id](http://eprints.uad.ac.id)

Internet Source

3%

---

Exclude quotes Off

Exclude matches < 3%

Exclude bibliography Off