

Table Of Content

Journal Cover	2
Author[s] Statement	3
Editorial Team	4
Article information	5
Check this article update (crossmark)	5
Check this article impact	5
Cite this article	5
Title page	6
Article Title	6
Author information	6
Abstract	6
Article content	7

ISSN (ONLINE) 2598-9936



INDONESIAN JOURNAL OF INNOVATION STUDIES
PUBLISHED BY
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SIDOARJO

Originality Statement

The author[s] declare that this article is their own work and to the best of their knowledge it contains no materials previously published or written by another person, or substantial proportions of material which have been accepted for the published of any other published materials, except where due acknowledgement is made in the article. Any contribution made to the research by others, with whom author[s] have work, is explicitly acknowledged in the article.

Conflict of Interest Statement

The author[s] declare that this article was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright Statement

Copyright © Author(s). This article is published under the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) licence. Anyone may reproduce, distribute, translate and create derivative works of this article (for both commercial and non-commercial purposes), subject to full attribution to the original publication and authors. The full terms of this licence may be seen at <http://creativecommons.org/licences/by/4.0/legalcode>

EDITORIAL TEAM

Editor in Chief

Dr. Hindarto, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Managing Editor

Mochammad Tanzil Multazam, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Editors

Fika Megawati, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Mahardika Darmawan Kusuma Wardana, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Wiwit Wahyu Wijayanti, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Farkhod Abdurakhmonov, Silk Road International Tourism University, Uzbekistan

Bobur Sobirov, Samarkand Institute of Economics and Service, Uzbekistan

Evi Rinata, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

M Faisal Amir, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Dr. Hana Catur Wahyuni, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

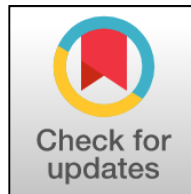
Complete list of editorial team ([link](#))

Complete list of indexing services for this journal ([link](#))

How to submit to this journal ([link](#))

Article information

Check this article update (crossmark)



Check this article impact (*)



Save this article to Mendeley



(*) Time for indexing process is various, depends on indexing database platform

Comparison of the Quality of DNA Template Isolation Results of the Resin Method with and Without Centrifugation

Perbandingan Kualitas DNA Template Hasil Isolasi Metode Resin dengan dan Tanpa Sentrifugasi

Liah Dwi Jayanti, liadwijayanti8@gmail.com, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Miftahul Mushlih, mif.mushlih@umsida.ac.id, (1)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

⁽¹⁾ Corresponding author

Abstract

The centrifugation process is able to separate the blood into several components, including the buffy coat. Buffy coat contains white blood cells that have a cell nucleus which is the source of DNA. This research uses descriptive experimental method. The samples used were 16 venous blood samples consisting of 8 samples without centrifugation (wholeblood) and 8 samples centrifuged (buffycoat). DNA isolation using the resin method. Quantitative analysis was performed using a UV-Vis spectrometer. The results showed that the average concentration and purity of DNA in the centrifuged sample was higher than in the sample without centrifugation. The result of this research is that the centrifuged sample (buffycoat) can be used for the DNA isolation process and has a higher purity and concentration value than the sample without centrifugation (wholeblood).

Published date: 2021-07-31 00:00:00

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: lysis 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 konsentrasi 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. Metode Resin Chelex juga memiliki tahapan yang sederhana sehingga resiko untuk kontaminasi lebih sedikit. Selain kelebihan, metode Resin Chelex juga mempunyai kekurangan diantaranya yaitu DNA atau RNA yang dihasilkan terlalu sedikit [5].

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 [6]. 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.

Metode Penelitian

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.

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/µl. Dan pada sampel dengan sentrifugasi memiliki kemurnian rata-rata 1,29 serta konsentrasi DNA sebesar 316,7 ng/µl.

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/µl. Grafik tersebut memiliki pergeseran panjang gelombang ke arah batokromik (*Red Shift*) [7]. Jika dilihat pada bentuk dari gelombang pengukuran pada grafik, sampel DNA tersebut terkontaminasi oleh EDTA [8]. 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 kontaminasi juga akan bertambah [9].

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. Menurut penelitian yang dilakukan Puspitasari 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.

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. 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 [10].

Kuantitas DNA yang digunakan untuk proses PCR tidak boleh kurang dari 1.0 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. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Siswanto et al yang mana pada sampel *buffy coat* merupakan sebagian besar mengandung sel darah putih yang mempunyai inti sel tempat dimana DNA berada.

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] .

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).

References

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. armaididarmawan@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. Phillips, 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>