

Indonesian Journal of Innovation Studies

Vol. 15 (2021): July

DOI: 10.21070/ijins.v15i.552 . Article type: (Innovation in Health Science)

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 the Quality of Template DNA isolated by Column Method with and without Centrifugation

Perbandingan Kualitas DNA Template yang diisolasi dengan Metode Kolom dengan dan tanpa Sentrifugasi

Aji Cakra Wardana, Ajiic.ac@gmail.com, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

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

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

⁽¹⁾ Corresponding author

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 application of centrifugation to the sample is expected to produce a Buffy coat layer containing nuclear cells. This study aims to compare the quality of the DNA template isolated from the column 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. DNA isolation column method is a DNA isolation method that uses a silica membrane, where the silica membrane works as a filter for DNA that is split from the cell. The DNA isolation method column 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.

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

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]. *Buffy coat* merupakan konsentrat yang mengandung komponen sel darah putih dan trombosit dari suatu sampel darah [4]. *Buffy coat* dalam penampakkannya akan berada pada lapisan tengah setelah dilakukan sentrifugasi[5].

Metode Column merupakan metode isolasi DNA yang menggunakan membran silika sebagai filter DNA yang telah terpisah dari sel [6]. 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 [7].

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 [8]. Sehingga pada penelitian ini dilakukan proses sentrifugasi pada sampel darah diharapkan dapat meningkatkan kualitas DNA yang dihasilkan.

Metode Penelitian

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.

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/μL(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/μL(tabel 1).

Tanpa perlakuan sentrifugasi				Dengan perlakuan sentrifugasi		
No	Kode Sampel	Kemurnian DNA A260/A280	Konsentrasi DNA ng/μL	No	Kode Sampel	Kemurnian DNA A260/A280
1	C1	1,42	240,7	9	S1	1,62
2	C2	1,52	202,5	10	S2	1,59
3	C3	1,51	191,8	11	S3	1,57
4	C4	1,53	206,4	12	S4	1,52

5	C5	1,49	205,3	13	S5	1,61
6	C6	1,52	230,6	14	S6	1,59
7	C7	1,53	224,9	15	S7	1,57
8	C8	1,44	215,0	16	S8	1,54

Table 1. Nilai kemurnian dan konsentrasi DNA

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 [9]. Kemurnian DNA sangat dipengaruhi oleh faktor teknis selama pengerjaan isolasi, salah satunya adalah pada proses pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah diinkubasi kedalam tabung ependorf 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 (*Wholeblood*).

Gambar1 Hasil Visualisasi elektroforesis DNA sampel dengan sentrifugasi Keterangan : M = marker 100bp	Gambar 2 Hasil visualisasi elektroforesis DNA sampel tanpa sentrifugasi Keterangan : M = marker 100bp
---	---

Table 2.

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 [10]. Hal ini sesuai dengan hasil uji spektrofotometer yang menunjukkan kemurnian DNA yang rendah dengan konsentrasi DNA yang tinggi.

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 (*wholeblood*).

References

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® Genomic Dna Kits Dan Chelex-100 Optimization of Fta Cards Sample Dna Isolation Method Using Purelink® 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.