

# artikel

*by* Waris 3

---

**Submission date:** 15-Jan-2022 01:58PM (UTC+0900)

**Submission ID:** 1742024738

**File name:** Kemurnian\_dan\_Konsentrasi\_DNA.pdf (280.19K)

**Word count:** 2491

**Character count:** 13932

## KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA HASIL EKSTRAKSI DARI SEL-SEL MUKOSA RONGGA MULUT

Waris<sup>1)</sup>

***Abstract:** The aim of this search was to get the purity and concentration of DNA that was extracted from epithelial of cavum oral. It was purposed to find the alternative material that was cheap, available and comfortable for DNA examination. The research was an exploration research consisted of thirty five samples that was chosed by random. The extraction of DNA was hold at molecular biology laboratory of Jember University. Material for DNA extraction was epithelial of cavum oral that was extracted by means of chelex 10%. The purity of DNA was evaluated from  $\lambda$  260 /  $\lambda$  280 ratio, and concentration of DNA determined by calculation of  $\lambda$  250 x 50 x dilution factor. If the  $\lambda$  260 /  $\lambda$  280 ratio  $\pm$  1,8 the DNA was pure. The result showed that there were twenty four (68,5%) samples that had value of ratio 1,7 – 1,8. Whereas, there were 22,9% samples that had DNA concentration 100 – 200  $\mu$ g/ml and 62,9% samples had concentration 300 – 1000  $\mu$ g/ml. Based on the result, it could be concluded that epithelial of cavum oral could be an alternative material for DNA examination.*

**Key word :** the purity and concentration of DNA, DNA extracted, epithelium.

### PENDAHULUAN

DNA (Deoxyribonucleid Acid) merupakan materi yang membawa informasi genetik yang mengatur dan membangun tubuh makhluk hidup. Dengan demikian untuk mengungkapkan berbagai hal yang terjadi pada makhluk hidup dilakukan melalui pemeriksaan DNA. Beberapa tahun terakhir, dengan perkembangan bidang biologi molekuler dan bertambahnya pengetahuan masyarakat dalam bidang ini menyebabkan pemeriksaan DNA tidak hanya dikenal oleh para ilmuwan tetapi juga masyarakat umum. Bahkan pemeriksaan DNA telah banyak membantu pihak kepolisian dalam menangani kasus-kasus tertentu yang tergolong sulit melalui bidang forensik (Jawa Pos, 11 Juni 1995).

Pemeriksaan DNA nampaknya menjadi landasan untuk berbagai bidang, yaitu identifikasi bermacam-macam penyakit, terutama penyakit genetik atau keturunan, penentuan identitas seseorang, penentuan hubungan orang tua – anak (Suryo, 1990), mengungkap pelaku dalam kasus permerkosaan dan pembunuhan, bahkan dalam masalah perokok berat dan infertilitas (ketidaksuburan) pria (Vogt, 1999).

Bahan untuk mendapatkan DNA dapat diperoleh dari semua sel tubuh yang mempunyai inti yaitu sel darah, tulang, spermatozoa, akar rambut dan jaringan tubuh lainnya (Anonim, 2002). Sesuai dengan bahan yang digunakan, telah dikembangkan berbagai cara ekstraksi DNA bahkan tersedia berbagai macam kit untuk ekstraksi DNA dengan kelebihan dan kekurangannya. Setiap tehnik ekstraksi DNA menggunakan alat dan bahan kimia yang berbeda, sehingga membutuhkan persyaratan koleksi baham yang berbeda pula. Dengan demikian, sebelum dilakukan proses ekstraksi DNA, bahan yang akan digunakan harus disiapkan secara benar sesuai dengan tehnik ekstraksi yang dipilih.

Ekstraksi DNA dari sampel hidup (bukan mayat), sebagian besar menggunakan darah sebagai bahan pemeriksaan. Hal ini karena darah sering digunakan bersamaan untuk pemeriksaan lain pada pasien di rumah sakit. Selain itu tersedia beberapa kit untuk ekstraksi DNA yang menggunakan sampel darah dan alat-alat untuk pengambilan darah tersebut dapat diapotik atau tempat-tempat tertentu. Namun demikian ada beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam menggunakan sampel darah yaitu:

---

<sup>1)</sup> Drs. Waris, M.Kes adalah dosen IKIP PGRI Jember

- a. untuk koleksi sampel darah diperlukan alat-alat dan bahan-bahan kimia (syringe, vacutainer dengan antisuagulan) yang harus dibeli di tempat-tempat tertentu. Hal ini tentunya akan menambah biaya pemeriksaan
- b. untuk mendapat sampel darah harus dilakukan oleh orang yang memang berprofesi dalam bidang ini (dokter, perawat atau tehnik laboratorium yang berpengalaman)
- c. pengambilan sampel darah pada anak-anak relatif sulit dilakukan karena sifat anak-anak yang takut dengan jarum injeksi
- d. apabila sampel yang akan digunakan berada di tempat yang jauh jaraknya dengan tempat ekstraksi DNA, dikhawatirkan terjadi kerusakan sampel saat diperjalanan. Selain itu juga diperlukan tempat membawa sampel yang khusus, dalam hal ini diperlukan dry ice untuk menjaga agar darah yang dibawa tetap seperti kondisi segar.

Berdasarkan hal tersebut perlu dicarikan alternatif koleksi sampel dengan cara lain yang sederhana, kurang mengeluarkan banyak biaya, serta nyaman bagi anak-anak. Salah satu sel tubuh yang dapat diekstraksi DNA nya adalah sel-sel mukosa rongga mulut (Ausubel, 1997). Penggunaan bahan ini mempunyai beberapa kelebihan dibanding dengan bahan yang berasal dari bagian tubuh lainnya, yaitu:

- a. proses mendapatkannya tidak sulit, tidak memerlukan tenaga profesional, bisa dilakukan oleh siapa saja dengan petunjuk yang benar.
- b. tidak membutuhkan alat-alat dan bahan-bahan kimia yang mahal, cukup *cotton bud* dan tempat yang steril.
- c. tidak menakutkan dan nyaman bagi anak-anak
- d. mudah dibawa apabila sampel berada di tempat yang jauh.

Proses mendapatkan bahan untuk ekstraksi DNA yang sederhana dan murah harus diikuti dengan hasil yang baik pula. DNA yang dihasilkan harus menunjukkan kemurnian dan konsentrasi yang sama baiknya dengan DNA yang diekstraksi dengan menggunakan bahan lain. Penelitian ini akan menunjukkan apakah koleksi sampel dengan menggunakan sel-sel mukosa rongga mulut layak digunakan sebagai bahan untuk mendapatkan DNA. Prosedur koleksi sampel dan ekstraksi DNA merupakan tahap yang penting karena kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh sangat menentukan tahap penggunaan DNA selanjutnya. Berdasarkan hal tersebut, rumusan masalah penelitian ini adalah berapa kemurnian dan konsentrasi DNA yang dihasilkan dari ekstraksi sel-sel mukosa rongga mulut.

Definisi / lingkup yang menjadi batasan penelitian ini dijelaskan sebagai berikut:

- a. sel-sel mukosa rongga mulut diambil dari dua sisi (kanan dan kiri) menggunakan 4 *cotton bud*, masing-masing sisi 2 *cotton bud*
- b. kemurnian DNA dinilai dari tingkat kontaminasinya oleh protein menggunakan spektrofotometer UV, yaitu dengan membagi nilai  $\lambda$  260 (nilai absorbansi atau penyerapan DNA terhadap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 260 nm) dengan nilai  $\lambda$  280 (nilai penyerapan protein terhadap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 280 nm). Jika nilai yang diperoleh  $\pm$  1,8 maka DNA dikatakan murni. Tetapi jika nilai yang diperoleh  $<$  1,8 maka DNA tersebut masih terkontaminasi oleh protein.
- c. konsentrasi atau konentrasi DNA dinilai secara kuantitatif dengan perhitungan: konsentrasi DNA ( $\mu\text{g/ml}$ ) = nilai  $\lambda$ 260 x 50 x faktor pengenceran. (50 merupakan konstanta yang menunjukkan bahwa pada panjang gelombang 260 nm, nilai absorbansi 1 setara dengan 50 $\mu\text{g/ml}$  DNA untai ganda).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi dari sel-sel mukosa rongga mulut sehingga dapat dipakai sebagai alternatif pengambilan sampel yang mudah, murah dan nyaman untuk pemeriksaan DNA. Hasil penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi dengan menggunakan sel-sel

mukosa rongga mulut sangat dibutuhkan sebagai dasar untuk menetapkan apakah sampel ini dapat dipakai untuk pemeriksaan DNA.

Dengan berkembangnya bidang biologi molekuler, pemeriksaan DNA banyak dilakukan di laboratorium-laboratorium biologi molekuler perguruan tinggi tertentu. Hal ini karena beberapa perguruan tinggi tersebut merupakan perguruan tinggi yang mempunyai dan bekerja sama dengan rumah sakit setempat. Selain itu kegiatan pemeriksaan DNA juga merupakan bagian dari kegiatan pelaksanaan penelitian dalam rangka peningkatan kualitas para tenaga akademik perguruan tinggi. Untuk tujuan itu, perlu dipertimbangkan koleksi sampel yang sederhana, tidak memerlukan biaya yang banyak tetapi memberikan hasil yang optimal.

Hingga kini banyak ahli yang mengembangkan tehnik ekstraksi DNA melalui berbagai perusahaan dengan memproduksi kit untuk ekstraksi DNA yang semakin praktis (Creader, 2002). Namun demikian, sebagian besar kit tersebut menggunakan sampel darah yang memerlukan perlengkapan dan bahan kimia tertentu untuk koleksinya. Sangat sedikit perusahaan yang memproduksi kit untuk ekstraksi DNA yang menggunakan sampel yang berasal dari jaringan tubuh. Untuk itu sangatlah perlu dilakukan kajian tentang kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari jaringan mukosa rongga mulut, agar dapat dipakai untuk pemeriksaan DNA.

## **METODE PENELITIAN**

### **Rancangan penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif untuk menemukann alternatif bahan untuk ekstraksi DNA yang sederhana, murah dan nyaman untuk pemeriksaan DNA. Sampel untuk penelitian ini dipilih secara acak sebanyak 35 orang. Hal ini berdasarkan perhitungan, dengan taraf kepercayaan 95% diperoleh sampel minimal 25 orang sedangkan dengan taraf kepercayaan 99% diperoleh sampel minimal 42 orang. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi molekulaer Universitas Jember. Adapun alat dan bahan penelitian sebagai berikut:

1. *cutton bud* dan tabung reaksi steril: untuk koleksi sampel sel-sel mukosa rongga mulut
2. autoclaf, alumunium foil: untuk sterilisasi alat
3. tabung Eppendorf, Blue tip, Yellow tip, micropipet, centrifuge, vortex, waterbath, PBS (Phospat Buffer Saline) 1x, chelec 10%: untuk ekstraksi DNA
4. Spektrophotometer UV: untuk pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA

### **Prosedur Penelitian**

1. koleksi sampel

Sel-sel mukosa rongga mulut diambil dengan cara mengoleskan dua *cutton bud* steril pada masing-masing sisi rongga mulut. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi steril

2. ekstraksi DNA

*Cutton bud* dalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml PBS, ditekan-tekan ke dinding baung selama kira-kira 30 detik. Cairan yang diperoleh dipindahkan ke tabung reaksi lain, dicentrifuge dengan kecepatan 5000-6000 g selama 1 menit. Bila buffer terlihat keruh atau belum nampak adanya pellet, dilakukan centrifuge lagi kira-kira 0,5-1 menit. Jika sudah terbentuk pellet, supernatant dibuang dan pellet ditambah dengan 100µl chelex 10%. Campuran divortex hingga larut, kemudian dididihkan dalam waterbath selama 10 menit. Campuran dibiarkan dingin kira-kira 2 menit, divortex, spin dua kali, akan terbentuk supernatant yang berisi DNA. Bagian atas supernatant diambil kira-kira 20-50µl dan ditempatkan dalam tabung Eppendorf, untuk diukur kemurnian dan konsentrasi DNAny.

### 3. pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA

Kemurnian DNA diukur dengan menggunakan spektrophotometer UV. Dua kuvert diisi dengan 700 µl destiled water sebagai blangko. Nilai absorbansi pada λ 260 dan λ 280 untuk blangko harus nol. Salah satu kuvert kemudian diganti dengan sampel DNA yang akan diukur sebanyak 10µl, ditambah dengan destiled water hingga 700µl (berarti pengenceran 70 x). Nilai absorbansi DNA pada λ 260 dan protein pada λ 280 dicatat untuk setiap sampel DNA.

Kemurnian DNA dinilai dari ratio antara λ 260 / λ 280, jika nilai ratio ± 1,8 maka DNA dikatakan murni, sedangkan jika nilai ratio antara λ 260 / λ 280 < 1,8 menunjukkan bahwa DNA tersebut terkontaminasi baik oleh cairan pengekstraksinya maupun oleh protein. Bila nilai ratio > 2,0 menunjukkan adanya RNA. Untuk konsentrasi DNA (µg/ml) dihitung dengan rumus : λ 260 x 50 x faktor pengenceran.

#### Analisis Data

Data analisis secara deskriptif berdasarkan kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrophotometer UV.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm untuk masing-masing sampel serta kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh, terdapat pada tabel dibawah ini.

No sampel	Absorbansi pada		Kemurnian DNA	Konsentrasi DNA (µg/ml)
	λ 260 nm	λ 280 nm		
1	0,049	0,028	1,75	171,5
2	0,044	0,025	1,76	154
3	0,038	0,020	1,90	133
4	0,029	0,017	1,70	101,5
5	0,117	0,064	1,82	409,5
6	0,153	0,085	1,80	535,5
7	0,096	0,055	1,74	336
8	0,237	0,138	1,71	829,5
9	0,160	0,094	1,70	560
10	0,171	0,102	1,67	598,5
11	0,122	0,079	1,54	427
12	0,213	0,133	1,60	745,5
13	0,192	0,128	1,50	672
14	0,205	0,117	1,75	717,5
15	0,271	0,150	1,80	948,5
16	0,198	0,126	1,57	693
17	0,089	0,049	1,81	311,5
18	0,362	0,241	1,50	1267
19	0,044	0,025	1,76	154
20	0,035	0,021	1,66	122,5
21	0,020	0,011	1,81	70
22	0,251	0,140	1,79	878,5
23	0,194	0,106	1,83	679
24	0,024	0,015	1,60	84
25	0,032	0,019	1,68	112
26	0,028	0,016	1,75	98
27	0,038	0,021	1,81	133

28	0,166	0,093	1,78	581
29	0,222	0,128	1,73	777
30	0,182	0,100	1,82	637
31	0,174	0,097	1,79	609
32	0,132	0,072	1,83	462
33	0,183	0,102	1,79	640,5
34	0,076	0,049	1,54	266
35	0,241	0,137	1,75	843,5

Berdasarkan tabel diatas nampak bahwa dari 35 sampel DNA, yang mempunyai kemurnian  $\pm 1,8$  (1,78-1,83) ada 13 sampel atau 37,1% dan yang mempunyai kemurnian antara 1,70 hingga  $< 1,78$  ada 11 sampel atau 31,4%. Sementara itu ada 10 orang atau 28,6% yang mempunyai kemurnian antara 1,5 hingga  $< 1,70$ .

Nilai ratio  $\lambda 260 : \lambda 280$  yang kurang dari 1,8 menunjukkan bahwa sampel tersebut terkontaminasi baik oleh cairan pengekstraksi yang digunakan ataupun oleh protein. Namun demikian pengalaman ekstraksi dengan menggunakan chelex 10% terhadap sampel sel-sel mukosa rongga mulut sebagian besar menghasilkan kemurnian dengan ratio antara 1,70-1,8. Jika melihat nilai ratio (1,70-1,8) yang diperoleh dari penelitian ini, ada 24 sampel atau 68,5%. Konsentrasi DNA yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan hanya 0,08% yang mempunyai konsentrasi  $< 100\mu\text{g/ml}$ . Sampel dengan konsentrasi DNA 100-200 $\mu\text{g/ml}$  sebanyak 22,9%, konsentrasi 300-1000 $\mu\text{g/ml}$  sebanyak 62,9% bahkan ada 1 sampel yang mengandung konsentrasi DNA  $> 1000\mu\text{g/ml}$ .

Data tentang kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa sel-sel mukosa rongga mulut dapat dipakai untuk bahan untuk ekstraksi DNA. Selain itu, untuk mendapatkan sel-sel mukosa yang baik kuantitas dan kualitasnya sehingga menghasilkan DNA dengan kemurnian dan konsentrasi yang baik pula, perlu diperhatikan cara mendapatkan sel-sel mukosa tersebut. Dalam hal ini pada saat *cutton bud* dioleskan pada dinding sebelah dalam rongga mulut harus disertai dengan penekanan yang memungkinkan terkelupasnya epitel rongga mulut.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh dari penelitian ini, yaitu 68,5% sampel mempunyai kemurnian dengan nilai ratio antara 1,7-1,8 dan 85,8% mempunyai konsentrasi DNA 100-1000 $\mu\text{g/ml}$ , sel-sel mukosa rongga mulut dapat dipakai sebagai bahan untuk ekstraksi DNA

### Saran

Oleh karena DNA yang diperoleh akan digunakan untuk berbagai tujuan maka perlu dikaji daya tahan akibat penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ainsworth, C. Beynon, J. and Buchanan V. 1997. *Tehniq in Plant Molecular Biology. Workshop of Molecular Biology*. Malang: Central Laboratory of Molecular Biology Brawijaya University.
- Albert and Bruce. 1994. *Biologi Molekuler Sel, Alih Bahasa: Alex Tri Kantjono*. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Anonim. 2002. *Workshop: Molecular Genetic Application in Biological Sciences*. Cibinong, 15-24 Juli 2004.

- Ausubel, FM. 1997. *Current Protocols in Molecular Biology*. Vol.1 John Wiley & Sons, Inc. Canada.
- Boyer, RF. 1993. *Modern Experimental Biochemistry*. The Benjamin Clummings Publishing Company, Inc. California.
- Creader, CA. 2002. *Feature Article: The Extract-N-Amp<sup>TM</sup> Blood Kit: Rapid DNA Extraction Coupled with PCR*. Life Science Vol.3. Issue 2.
- Jawa Pos, Minggu 11 Juni 1995. *Test DNA, Menyingkap Sisi Gelap Kriminalitas "Barang Bukti yang Tak Terbantahkan Lagi"*. Oleh Ariyanti Handayani.
- Micheli, MR and Bova, R. 1997. *Fingerprinting Methode Based on Arbitrarily Primed PCR*. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Retnoningrum, DS. 1997. *Asam Nukleat*. Bandung: Jurusan Farmasi ITB.
- Smith, CA and Wood EJ. 1991. *Molecular Biology and Biotechnology*. USA:Chapman and Hall. Ltd.
- Sumitro, BS. 1996. *Kursus Teknik-teknik Dasar Analisis Protein dan DNA*. Malang: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya.
- Suryo. 1990. *Genetika Manusia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Werner, R. 1992. *Essential Biochemistry and Molecular Biology*. Appleton & Lange. Conecticut.
- Vogt, PH. 1999. *Y Chromosome and Single Gene Defect that Cause Male Infertility. In Robert Jansen and David Martinez. Toward Reproductive Certainty-Fertility and Genetic Beyond*. New York-London: The Parthemon Publishing Group.

# artikel

---

## ORIGINALITY REPORT

---

1

%

SIMILARITY INDEX

%

INTERNET SOURCES

%

PUBLICATIONS

1

%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

1

Submitted to University of New England

Student Paper

1 %

---

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off