

Artikel Penelitian

Analisis Nilai Kemurnian DNA Menggunakan Nano Fotometer pada Rasio 260/230 yang Diisolasi dari Produk Nugget

Alfi Sophian^{1*}, Yustina²

^{1,2}Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta Pusat, Indonesia

*Corresponding author: alfi.sophian@pom.go.id

ABSTRACT

Background: The purity value parameter analyzed from the wavelength with a ratio of 260/230 is a secondary validation parameter used to analyze the quality of isolated DNA in chicken nugget products. **Purposes:** The aim of this research was to provide information about the analysis value of isolated DNA purity readings at a ratio of 260/230. By obtaining information from the results of this study, it is hoped that it can provide benefits for relevant similar research. **Method:** The method used in this study was the DNA isolation method using the spin column technique, and then the isolated DNA obtained was read using a nano photometer at a ratio of 260/230. **Result:** The measurement results are then calculated as the average value and standard deviation. Based on the results of the isolated DNA measurements, the purity results which were read at the A260/A230 ratio were in the range of 1.98 – 2.10, with an average value of 2.043. **Conclusion:** Based on these results, it can be concluded that the isolated DNA obtained showed good DNA quality based on the quality requirements for the purity value of DNA at a ratio of 260/230, namely in the range of 2.0 – 2.2.

Keywords: analysis, DNA, purity, ratio, validation

ABSTRAK

Latar belakang: Parameter nilai kemurnian yang dianalisis dari panjang gelombang dengan rasio 260/230 merupakan parameter validasi sekunder yang digunakan untuk melakukan analisis mutu DNA hasil isolasi pada produk nugget ayam. **Tujuan:** Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah untuk memberi informasi tentang nilai analisis kemurnian DNA hasil isolasi yang dibaca pada rasio 260/230. Dengan diperolehnya informasi dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat terhadap penelitian sejenis yang relevan. **Metode:** Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode isolasi DNA menggunakan teknik spin kolom, kemudian DNA hasil isolasi yang diperoleh dibaca menggunakan nano fotometer pada rasio 260/230. **Hasil:** Hasil pengukuran kemudian dihitung nilai rata-rata dan standar deviasinya. Berdasarkan hasil pengukuran DNA hasil isolasi diperoleh hasil kemurnian yang dibaca pada rasio A260/A230 berada pada kisaran 1,98 – 2,10, dengan nilai rata-rata berada pada nilai 2,043. **Simpulan:** Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa DNA hasil isolasi yang diperoleh menunjukkan kualitas DNA yang baik berdasarkan syarat mutu nilai kemurnian DNA pada rasio 260/230 yaitu pada kisaran 2,0 – 2,2.

Kata kunci: analisis, DNA, kemurnian, rasio, validasi

PENDAHULUAN

Parameter nilai kemurnian yang dianalisis dari panjang gelombang dengan rasio 260/230 merupakan parameter validasi sekunder yang digunakan untuk melakukan analisis mutu DNA hasil isolasi. Beberapa penelitian yang melakukan analisis terhadap mutu DNA hasil isolasi seperti pada produk tomat, beras, pembuatan baku DNA *porcine* dan pada produk cangkang kapsul (1–5), akan tetapi, penelitian-penelitian tersebut belum mencantumkan rasio 260/230 sebagai parameter mutu DNA. Oleh sebab itu penelitian ini menjadi penting untuk dilakukan.

Pada analisis DNA hasil isolasi, nilai rasio 260/A230 digunakan untuk menunjukkan adanya senyawa organik yang tidak diinginkan seperti *Trizol*, *fenol*, *Guanidine HCL* dan *guanidin tiosianat*. Rasio 260/230 yang dapat diterima secara umum berada dalam kisaran 2,0 – 2,2 (6,7). Nilai yang lebih tinggi dari ini dapat menunjukkan kontaminasi dengan senyawa yang disebutkan di atas. Penggunaan parameter nilai rasio ini berbeda dengan rasio 260/280 yang merupakan parameter paling banyak digunakan dalam menentukan kemurnian pengukuran asam nukleat. Rasio ini paling umum digunakan untuk menentukan keberadaan protein dan atau fenol dalam sampel asam nukleat yang diisolasi. Penelitian bertujuan mendapatkan informasi tentang nilai analisis kemurnian DNA hasil isolasi yang dibaca pada panjang gelombang dengan rasio 260/230.

METODE

Material

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah produk nugget ayam, kit ekstraksi

DNeasy Mericon Food [Qiagen], alkohol 96%, Air bebas nucleotide (NFW).

Prosedur Ekstraksi DNA

Timbang sampel seberat 20 mg dalam tabung mikrosentrifus 2 ml, kemudian ditambahkan 500 μ L *lysis buffer* dan 30 μ L Proteinase K, kemudian diinkubasi pada suhu 70 °C selama 60 menit. Keluarkan sampel dari inkubasi kemudian lanjutkan dengan centrifuge selama 5 menit dengan kecepatan putaran centrifuge 14.000 rpm. Dalam tabung sentrifus akan terbentuk 2 lapis pelet dan supernatan, ambil supernatan sebanyak 350 μ L dengan cara dipipet dan pindahkan ke tabung sentrifus 2 mL kemudian ditambahkan 350 μ L alkohol 96% dan dihomogenkan dengan cara divortex selama 10 detik, kemudian dipipet larutan yang berada di lapisan atas ke dalam tabung sentrifus 2 mL yang baru dan ditambahkan 500 μ L *binding buffer* PB.

Vortex kemudian memasukkan semua cairan ke dalam tabung centrifuge 2 ml secara bertahap sampai habis ke dalam spin column dan centrifuge. Setelah semua cairan habis, masukkan dan centrifuge, lalu tambahkan 500 μ L wash buffer AW2 dan centrifuge lagi selama 1 menit dengan kecepatan putaran 14.000 rpm. Pindahkan spin column ke dalam tabung sentrifus baru 1,5 mL kemudian tambahkan 100 μ L elution buffer (EB) kemudian sentrifus dengan kecepatan putaran 14.000 rpm selama 1 menit. Buang spin column dan sisa cairan dalam tabung centrifuge 1,5 mL merupakan DNA hasil isolasi yang akan diukur kemurnian dan konsentrasinya sebelum digunakan (8,9).

Analisis Mutu DNA

Analisis mutu DNA hasil isolasi diukur menggunakan nanophotometer, dimana analisis mutu berdasarkan nilai kemurnian DNA panjang gelombang dengan rasio 260/230 (6,7,10).

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara menghitung nilai rata-rata kemurnian yang didapat dari pengukuran menggunakan nanophotometer kemudian dihitung nilai standar deviasinya dan dibandingkan dengan nilai mean. Jika nilai standar deviasi lebih kecil dari nilai mean, maka data yang dianalisis dapat dikatakan homogen.

HASIL

Tabel 1. Hasil isolasi DNA

No.	Rasio Panjang Gelombang Nano Fotometer		
	260	230	260/230
1	20,152	10,178	1,98
2	19,922	9,961	2,00
3	25,188	12,408	2,03
4	25,164	12,335	2,04
5	25,345	12,363	2,05
6	18,431	9,035	2,04
7	18,711	9,217	2,03
8	18,520	9,123	2,03
9	19,607	9,564	2,05
10	19,847	9,777	2,03
11	19,962	9,785	2,04
12	19,934	9,492	2,10
13	20,400	9,761	2,09
14	20,047	9,592	2,09
15	19,819	9,528	2,08
16	20,289	9,849	2,06
17	20,383	10,141	2,01
18	23,326	11,491	2,03
19	23,201	11,373	2,04
20	23,178	11,362	2,04
Rata-rata	21,071	10,317	2,043
SD	2,266	1,128	0,030

Berdasarkan hasil pengukuran DNA hasil isolasi menggunakan nanophotometer diperoleh hasil kemurnian yang dibaca pada rasio 260/230 berada pada kisaran 1.98 – 2.10, dengan nilai rata-rata berada pada nilai 2.043 (Tabel 1).

PEMBAHASAN

Dalam melakukan isolasi DNA, tahapan lisis merupakan suatu bagian yang memegang peranan penting dalam mendukung keberhasilan proses isolasi DNA (11–13). Pada tahap ini, lisis dibantu oleh enzim proteinase K yang aktif bekerja pada suhu 65-70 °C (14–16). Beberapa penelitian menunjukkan masa inkubasi proteinase K yang bervariasi berkisar antara 30 menit sampai 3 jam (11,17–19), Akan tetapi, penelitian lain yang dilakukan oleh (20) menunjukkan suhu inkubasi 75 °C selama 10 menit.

Pada penelitian ini, pemilihan parameter mutu DNA hasil isolasi yang dilakukan menggunakan nilai rasio 260/230 yang banyak dikenal sebagai parameter sekunder dalam menentukan kualitas DNA hasil isolasi, dimana pada parameter ini dapat melihat sumber kontaminan DNA hasil isolasi. Setidaknya ada beberapa penyebab paling umum dari rasio abnormal dalam isolasi DNA yaitu; kontaminasi sampel oleh residu fenol, guanidin, dan reagen lain yang digunakan dalam protokol isolasi.

Karbohidrat adalah kontaminan umum yang terkait dengan isolasi asam nukleat dari sumber tanaman, sampel sangat encer dan konsentrasi mendekati batas deteksi terendah.

Rasio yang tidak akurat dapat diamati untuk sampel asam nukleat dengan

konsentrasi <10 ng/μl, dan penggunaan larutan elusi yang tidak tepat digunakan untuk pengukuran blank. Larutan blanko harus memiliki kekuatan ionik dan pH yang sama dengan larutan sampel. Menggunakan air untuk pengukuran Blanko untuk sampel yang dilarutkan dalam *tris EDTA* dapat menghasilkan rasio 260/230 yang rendah (6,7).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa DNA hasil isolasi yang diperoleh menunjukkan kualitas DNA yang baik berdasarkan syarat mutu nilai kemurnian DNA pada rasio 260/230 yaitu pada kisaran 2,0 – 2,2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan atas dukungan fasilitas laboratorium pengujian yang digunakan dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan, dan tidak ada afiliasi atau hubungan dengan atau dengan entitas atau organisasi mana pun, yang dapat menimbulkan pertanyaan bias dalam diskusi dan kesimpulan dari naskah.

REFERENSI

1. Turci M, Sardaro MLS, Visioli G, Maestri E, Marmiroli M, Marmiroli N. Evaluation of DNA extraction procedures for traceability of various tomato products. *Food Control*. 2010 Feb;21(2):143–9.
2. Thomas SM, Moreno RF, Tilzer LL. DNA extraction with organic solvents in gel barrier tubes. *Nucleic Acids Res*. 1989 Jul;17(13):5411.
3. Sutanta M, Wulan DT, Nabila Y, Sophian A. Application of Double Wash Technique for Species DNA Isolation in Soft Capsule Shell Samples. *Erud Indones J Food Drug Saf*. 2022 May 24;2(1):14–9.
4. Wulan DTRI, Sutanta M, Sophian A. Short Communication : Comparison of two commercial DNA extraction kit to obtain high quality porcine DNA. *Asian J Trop Biotechnol*. 2021;18(2):69–72.
5. Aliyu R, Ademola O. Comparative study of genomic DNA extraction protocols in rice species. *Int journals Adv Res Technol*. 2013 Mar 2;2:2.
6. Armbrecht M. Detection of contamination in DNA and protein samples by photometric measurements. *Appl Note* 279. 2013;(279):1–6.
7. Matlock B. Assessment of nucleic acid purity. *Tech Note*. 2015;52646:1–2.
8. Sophian A, Sri U, Sofia UD. DNA isolation in processed chicken meat products (nugget) using modified DNeasy Mericon Food kit (Qiagen). 2022;12(2):15–21.
9. Utaminingsih S, Utami SD, Sophian A. Isolasi DNA pada Produk Otak-Otak Ikan Bandeng. *Muhammadiyah J Nutr Food Sci*. 2022;3(1):36–41.
10. Branquinho MR, Trotta R, Ferreira B, Cardarelli-Leite P. Use of real-time PCR to evaluate two DNA extraction methods from food Utilização da técnica de PCR em tempo real para avaliação de dois

- métodos de extração de DNA a partir de alimentos. In 2012.
11. Sophian A. Detection of Species DNA in Chicken Meatball Products Using NGF Genes as Molecular Markers. *BiosciED J Biol Sci Educ* [Internet]. 2021 Dec 1;2(2):47–51. Available from: <https://e-journal.upr.ac.id/index.php/bed/article/view/3422>
 12. Sophian A. Species DNA Detection Using PGR Gene Genetic Markers in Chicken Nuggets. *Indones Food Sci Technol J* [Internet]. 2021 Dec 31;5(1):17–20. Available from: <https://online-journal.unja.ac.id/iftstj/article/view/14618>
 13. Sophian A. Short Communication: Analysis of purity and concentration of extracted DNA on salted fish processed food products. *Asian J Nat Prod Biochem* [Internet]. 2021 Mar 5;19(1). Available from: <https://smujo.id/jnpb/article/view/6779>
 14. Ebeling W, Hennrich N, Klockow M, Metz H, Orth HD, Lang H. Proteinase K from *Tritirachium album* Limber. *Eur J Biochem*. 1974 Aug;47(1):91–7.
 15. Sophian A. DNA Isolation of Chicken Feathers from the Base of the Young Feathers, the Base of the Old Feathers, and the Tip of the Feathers. *BIOEDUSCIENCE* [Internet]. 2021 Aug 31;5(2):104–8. Available from: <https://journal.uhamka.ac.id/index.php/bioeduscience/article/view/6211>
 16. Sophian A, Abinawanto. Study of Co1 and BIK BCL2 Gene Analysis in Gorontalo Local Chicken. *J Hunan Univ Nat Sci* [Internet]. 2022 Jan 28;49(1):220–7. Available from: <http://jonuns.com/index.php/journal/article/view/947>
 17. Gryson N. Effect of food processing on plant DNA degradation and PCR-based GMO analysis: a review. *Anal Bioanal Chem*. 2010 Mar;396(6):2003–22.
 18. Bauer T, Hammes WP, Haase NU, Hertel C. Effect of food components and processing parameters on DNA degradation in food. *Environ Biosafety Res*. 2004;3(4):215–23.
 19. Sophian A, Syukur A. Analysis of Purity and Concentration of Isolated DNA in Making Raw DNA of Rat Species. *Erud Indones J Food Drug Saf* [Internet]. 2021 Nov 30;1(2):1–5. Available from: <https://ppsdm.pom.go.id/eruditio/index.php/home/article/view/75>
 20. Santos ALF, Oliveira CQP, Arruda GNPN, Martins JK. Comparison of DNA extraction using proteinase K and extraction kit: analysis of the quality of the genetic material. *J Bras Patol e Med Lab*. 2018;54(2).