



Perbandingan Metode Boiling Dan Kit Komersial Untuk Ekstraksi DNA TB, Tinjauan Dari Aspek Kualitas, Kuantitas, Dan Integritas DNA

Muhammad Rafi Taufiqulhakim¹, Linosefa², Muhammad Zulfadli Syahrul³, Andani Eka Putra²

¹ S1 Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, 25163, Indonesia

² Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, 25163, Indonesia

³ Departemen Anestesi dan Terapi Intensif Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP Dr. M. Djamil, Padang, 25163, Indonesia

ABSTRACT

Abstrak

Latar Belakang: Tuberculosis (TB) merupakan suatu penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Prevalensi penyakit tuberkulosis pada tahun 2023 meningkat dari tahun 2022, hal ini juga disebabkan karena lamanya diagnosis dari penyakit tuberkulosis. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan salah satu teknologi molekular yang berkembang untuk mendiagnosis penyakit tuberkulosis.

Objektif: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial, yang ditinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian analitik. Penelitian ini dilakukan di Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang pada periode bulan Juli 2023 - Maret 2024.

Hasil: Pada aspek kualitas DNA, ekstraksi DNA dengan menggunakan metode *boiling* memiliki rata-rata sekitar 1.47 dan kit komersial memiliki rata-rata sekitar 1.79. Pada aspek kuantitas DNA, ekstraksi DNA dengan menggunakan metode *boiling* memiliki rata-rata 7.1 ng/μl dan kit komersial memiliki rata-rata sekitar 17.1 ng/μl. Pada aspek integritas DNA metode *boiling* dapat memvisualisasikan 28 sampel positif dan kit komersial 22 sampel positif.

Kesimpulan: pada penelitian ini terdapat perbedaan yang signifikan antara metode *boiling* dan kit komersial pada aspek kualitas dan kuantitas DNA, dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara metode *boiling* dan kit komersial pada aspek integritas DNA.

Kata kunci: *mycobacterium tuberculosis*, ekstraksi, DNA, *boiling*, PCR

Abstract

Background Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by the bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. The prevalence of tuberculosis in 2023 will increase from 2022, this is also due to the length of time it takes to diagnose tuberculosis. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) is a molecular technology that is being developed to diagnose tuberculosis.

Objective: This study aims to analyze the differences in TB DNA extraction using the boiling method and commercial kits, in terms of quality, quantity and DNA integrity.

Methods: This research is analytical research. This research was conducted at the Diagnostic and Research Center for Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Andalas University, Padang in the period July 2023 - March 2024.

Result: In terms of DNA quality, DNA extraction using the boiling method has an average of around 1.47 and commercial kits have an average of around 1.79. In terms of DNA quantity, DNA extraction using the boiling method has an average of 7.1 ng/μl and commercial kits have an average of around 17.1 ng/μl. In the DNA integrity aspect, the boiling method can visualize 28 positive samples and the commercial kit 22 positive samples.

Conclusion: This study shows that there is a difference between the boiling method and commercial kits in the aspect of DNA quality and quantity, and there is no difference between the boiling method and commercial kits in the aspect of DNA integrity.

Keyword: *mycobacterium tuberculosis*, extractio, DNA, boiling, PCR

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

PCR merupakan salah satu teknologi di bidang biologi molekuler yang dapat mendiagnosis penyakit infeksi salah satunya penyakit tuberkulosis.

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Mengetahui perbandingan ekstraksi DNA yang dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA untuk mendeteksi DNA TB.

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: +6287870974685

E-mail: linosefa@med.unand.ac.id

ARTICLE INFORMATION

Received: May 28th, 2024

Revised: December 11th, 2025

Available online: Desember 28th, 2025

Pendahuluan

Tuberculosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *M. tuberculosis* merupakan jenis bakteri yang memiliki bentuk batang dan sifatnya yang tahan asam sehingga sering disebut sebagai Basil Tahan Asam (BTA). Penyakit TB sudah menjadi permasalahan di bagian kesehatan dari abad ke-19 hingga sampai ke awal abad ke-20.¹ *M. tuberculosis* memiliki kemampuan untuk dapat menginfeksi hampir seluruh organ tubuh manusia (TB ekstra paru) seperti di pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya, tetapi paru-paru tepatnya di parenkim paru merupakan organ yang paling umum terkena infeksi dari *M. tuberculosis*. TB sendiri menyebar dari satu individu ke individu lainnya dari seorang penderita TB aktif (*actively infected*) melalui cara batuk ataupun bersin dalam bentuk droplet.² Menurut *Global TB Report* tahun 2023, pada tahun 2022 terdapat total sekitar 10.6 juta kasus yang ditemukan diseluruh dunia dan Indonesia sendiri merupakan salah satu kontributor utama peningkatan kasus TB global bersama Myanmar dan Filipina, yaitu sekitar 0.4 juta kasus dari tahun 2020 sampai tahun 2022.³

Mendeteksi suatu penyakit TB harus dilakukan secara singkat untuk membantu menunjang pengobatan, penanganan awal penyakit dan mencegah penyebaran penyakit. Metode kultur merupakan pemeriksaan baku emas yang harus dilakukan untuk mendeteksi suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri terutama *M. tuberculosis*. Namun, waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas maksimal itu cukup lama, yaitu sekitar 6-8 minggu dan ini dapat menjadi permasalahan karena menunda pasien untuk mendapat pengobatan yang tepat sehingga pasien bisa berisiko jatuh kekeadaan resisten obat. Selain dari metode kultur, metode mikroskopis bakteri tahan asam (BTA) dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen juga merupakan metode untuk diagnosis penyakit TB. Waktu pemeriksaan yang tergolong cepat dan mudah

membuat metode ini rutin digunakan di laboratorium, rumah sakit, maupun puskesmas di Indonesia. Namun, dibutuhkan spesimen sputum paling sedikit 500 mikrobakterial/ml untuk mendapatkan sensitivitas yang tinggi.^{4,5}

Seiring dengan berjalannya waktu sudah dikembangkan teknologi yang bernama biologi molekuler yang sekarang keberadaannya sudah menggeser metode kultur/metode konvensional. Teknik dari biologi molekuler ini memiliki waktu yang singkat untuk mendeteksi suatu jenis bakteri yang masih hidup ataupun sudah mati dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.⁶ Widaningsih dkk (2012) menyatakan bahwa deteksi *M. tuberculosis* dengan PCR memiliki daya lacak yang lebih tinggi atau sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode kultur dan BTA. Metode PCR dapat mendeteksi sebanyak 40 (90,9%) sampel positif dari 44 sampel pasien yang terinfeksi *M. tuberculosis*.⁷

Banyak tahap yang harus dilalui untuk mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas yang maksimal pada metode PCR, salah satunya yaitu dengan melalui ekstraksi DNA.^{4,8} Isolasi/ekstraksi DNA adalah prosedur rutin untuk mengumpulkan DNA untuk analisis molekuler dengan cara merusak atau memecah dinding sel sehingga DNA keluar dari inti sel. Terdapat 3 hal penting untuk dapat mengukur prosedur ekstraksi DNA yang baik, yaitu kemurnian DNA yang tinggi, DNA dalam keadaan utuh, dan konsentrasi DNA yang tinggi.⁹ Untuk mengoptimalkan metode ekstraksi DNA, hal lain yang harus dipertimbangkan adalah waktu, biaya, hasil, risiko toksisitas, peralatan laboratorium dan keahlian yang diperlukan, serta jumlah sampel yang diperlukan untuk protokol.¹⁰

Banyak metode yang dapat dilakukan untuk melakukan ekstraksi DNA khususnya DNA TB, yang masing-masing dari metode tersebut tentunya memiliki kekurangan dan kelebihan, salah satunya adalah metode *boiling*.¹¹ Metode *boiling* merupakan metode ekstraksi DNA dengan sederhana yang fokusnya adalah melakukan

pemanasan dengan suhu tinggi biasanya sekitar (90°C-100°C), tetapi lamanya pemanasan dan suhu yang diperlukan sangat dipengaruhi oleh sampel yang digunakan. Penelitian yang dilakukan oleh Fihirudin (2022) menyatakan untuk kemurnian DNA dari metode boiling yang dipanaskan pada suhu 90°C dan 95°C dapat teramplifikasi dengan metode PCR, dimana pita yang bagus muncul pada hasil elektroforesis gel agarosa 1% dan berada di antara marker ke-4 dan ke-5, walaupun kemurnian DNA-nya masih terbilang rendah yang berada di bawah nilai 1.8-2.0.⁶ Metode ini dapat digunakan untuk jenis bakteri gram positif maupun negatif.¹²

Metode *boiling* ini juga sangat efektif dalam merusak struktur membran sel dan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga DNA keluar dan menghasilkan DNA yang berkualitas untuk digunakan dalam metode PCR. Selain itu, metode *boiling* tidak perlu menggunakan kolom atau *magnetic beads* yang dapat meningkatkan biaya ekstraksi DNA dan menggunakan reagen tambahan.^{6,11} Metode boiling juga memiliki biaya yang relatif murah, serta prosedur untuk melakukan ekstraksi yang mudah dan tidak memerlukan waktu yang lama.⁶ Banuls dkk (2015) melakukan penelitian ekstraksi DNA *M. tuberculosis* dengan menggunakan metode boiling. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa metode boiling dengan menggunakan suhu 100°C selama 10-30 menit dapat menghasilkan DNA yang murni dan berkualitas untuk dapat digunakan sebagai *template* PCR.¹³ Gowda dkk (2017) juga melakukan penelitian ekstraksi DNA *Salmonella* dengan menggunakan metode boiling dan hasilnya adalah efektif untuk menganalisis genetik dari *Salmonella* tersebut.¹⁴ Perbandingan ekstraksi DNA menggunakan *boiling* dengan metode kultur didapatkan sensitivitas 93.8% dan spesifisitas 99.1% untuk mendeteksi bakteri *M. tuberculosis*. Metode boiling ini dapat digunakan untuk mendeteksi kuman dengan cepat.¹⁵

Selain dari metode *boiling*, terdapat juga metode yang digunakan untuk isolasi DNA yaitu metode dengan menggunakan kit komersial. Kit komersial yang saat ini digunakan adalah berbasis filter/*Filter Based Kit*, yang menggunakan kolom spin yang memiliki bahan pengikat untuk memudahkan penerapan prinsip ekstraksi DNA. Metode ini memiliki kemudahan untuk menerapkannya dan memiliki hasil konsentrasi DNA dan kemurnian yang cukup tinggi. Metode ini juga memiliki keuntungannya tersendiri, yaitu

pengerjaan dari isolasi DNA yang sederhana tidak membutuhkan banyak zat pelarut dan resiko untuk terkena toksik berkurang. Semua bahan dan larutan yang dibutuhkan sudah dikemas menjadi satu paket sehingga waktu pengerjaan lebih efisien. Namun, kit komersial juga memiliki kekurangan diantaranya, bahan yang digunakan untuk ekstraksi DNA sulit untuk didapatkan, waktu importasi yang cukup lama, dan juga membutuhkan biaya yang cukup mahal untuk mendapatkan alat ekstraksi tersebut.^{16,17}

Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik mengetahui perbandingan antara metode *boiling* dan kit komersial untuk diagnosis TB yang ditinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional menggunakan desain *cross-sectional* untuk membandingkan ekstraksi DNA dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Dr. dr. Andani Eka Putra, M.Sc. Penelitian ini dilakukan di Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang dari Februari 2024 – Maret 2024.

Populasi penelitian ini adalah Populasi dalam penelitian ini adalah sputum dari pasien yang terkonfirmasi (+) TB menggunakan GeneXpert dan kultur yang berasal dari Rumah Sakit Paru Sumatera Barat. Sampel yang digunakan adalah sampel sputum yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sampel yang memiliki jumlah volume sputum lebih dari 200 µl dan kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah sampel sputum yang terkontaminasi dengan zat/cairan seperti darah atau terdapat sisa makanan dan air liur.

Instrument dalam penelitian ini adalah sampel sputum akan dilakukan ekstraksi DNA dengan menggunakan 2 metode, yaitu metode *boiling* dan kit komersial lalu di analisis perbedaan aspek kualitas dan kuantitas DNA dengan menggunakan nanodrop, dan analisis perbedaan aspek integritas DNA menggunakan PCR konvensional dengan visualisasi menggunakan elektroforesis Analisis data dari hasil pemeriksaan akan dilakukan uji normalitas dengan metode *Kolmogorof-Smirnov* (jumlah data lebih dari 50) untuk melihat distribusi dari data numerik/rasio. Kemudian untuk mengetahui aspek integritas dari DNA

dilakukan uji *Chi-Square*. Uji Independent *Sample T-Test* akan dilakukan untuk menganalisis perbedaan yang signifikan untuk aspek kualitas dan kuantitas DNA dengan syarat data terdistribusi normal. Uji *Mann-Whitney* dilakukan pada data yang tidak terdistribusi normal.

Nomor izin kaji etik pada penelitian ini adalah No: 26/UN.16.2/KEP-FK/2024, dan institusi yang mengeluarkan no izin kaji etik penelitian ini adalah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Hasil

Penelitian telah dilakukan pada Februari 2024 - Maret 2024 di Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Sampel penelitian ini berjumlah 30 sampel sputum yang terkonfirmasi (+) TB yang berasal dari Rumah Sakit Paru Sumatera Barat. Data dari hasil ekstraksi DNA dalam aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA disajikan secara berturut-turut dalam Tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Perbedaan Hasil Kualitas Ekstraksi DNA dengan Metode Boiling dan Kit Komersial

	Metode Boiling	Kit Komersial	p
Kualitas DNA*	1,477 ± 0,286	1,791 ± 0,192	0,00

* Mean ± Standar Deviasi

Berdasarkan Tabel 1, hasil dari kualitas ekstraksi DNA menggunakan metode *boiling* mendapatkan *mean* sekitar 1,477 dan untuk kit komersial mendapatkan hasil sekitar 1,791. Perbedaan signifikan antara perbandingan kualitas ekstraksi DNA ditemukan pada metode *boiling* dan kit komersial ($p=0,00$; $p<0,05$).

Tabel 2. Perbedaan Hasil Kuantitas Ekstraksi DNA dengan Metode Boiling dan Kit Komersial

	Metode Boiling	Kit Komersial	p
Kuantitas DNA**	4,719 ng/μl (1,551 – 31,601)	14,254 ng/μl (5,654 – 63,819)	0,00

**Median(minimum-maksimum)

Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan bahwa perbandingan kuantitas ekstraksi DNA memiliki perbedaan yang signifikan pada metode *boiling* dan kit komersial ($p=0,00$; $p<0,05$). Hasil dari kuantitas ekstraksi DNA menggunakan metode *boiling* memiliki median sekitar 4,179 ng/μl dan

untuk kit komersial memiliki median sekitar 13,254 ng/μl.

Tabel 3. Perbedaan Hasil Integritas Ekstraksi DNA dengan Metode Boiling dan Kit Komersial

Ekstraksi	Metode Boiling	Kit Komersial	p
Band Terlihat (+)	28	22	0,08
Band Tidak Terlihat (-)	2	8	

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan hasil dari integritas DNA pada metode *boiling* dapat memvisualisasikan hasil ekstraksi DNA sebanyak 28 sampel (+) dan kit komersial dapat memvisualisasikan 22 sampel (+). Perbandingan integritas ekstraksi DNA antara metode *boiling* dan kit komersial tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok ekstraksi DNA menggunakan Metode *boiling* dan kit komersial ditemukan ($p=0,08$; $p>0,05$).

Pembahasan

Analisis Perbedaan Kualitas DNA dengan Metode Boiling dan Kit Komersial

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan jumlah sampel 30 pasien yang terkonfirmasi (+) TB, didapatkan perbedaan yang signifikan antara metode *boiling* dan kit komersial dalam aspek kualitas DNA/kemurnian DNA yang sudah dilakukan isolasi. Hasil dari penelitian terkait analisis perbandingan kualitas DNA dengan metode *boiling* dan Kit komersial sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Febriyanti (2023) di Cimahi Jawa Barat dengan hasil perbedaan yang signifikan dimana nilai ($p<0,05$). Pada metode *boiling* memiliki rata-rata kualitas DNA yang tidak bagus yaitu sekitar 1,23.¹⁸

Hasil ekstraksi sampel dengan menggunakan metode *boiling* ini didapatkan hanya 3 sampel yang nilainya berada direntang 1,8-2,0 dan memiliki rata-rata nilai 1,47. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fihirudin (2022) dimana ekstraksi DNA dengan menggunakan metode *boiling* berada di rentang 1,18-1,23.⁶ Metode *boiling* untuk ekstraksi DNA memiliki kemurnian yang rendah yang berarti menunjukkan kualitas DNA yang kurang baik, dikarenakan hasil isolasi dari metode *boiling* tidak tersaring secara menyeluruh. Terdapat berbagai macam jenis bagian sel pada hasil isolasi DNA seperti; protein, lemak, karbohidrat, dan membran

sel. Dibandingkan dengan metode ekstraksi lain metode *boiling* sendiri tidak memasukan langkah untuk *washing*/pencucian dan purifikasi pada langkah ekstraksinya, hal ini yang kemungkinan menjadi penyebab terjadi kontaminasi pada sampel ekstraksi DNA.^{18,19} Sedangkan hasil ekstraksi dengan menggunakan kit komersial ditemukan 14 sampel dengan hasil berada di rentang 1,8-2,0 dan dengan nilai rata-rata 1,79. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Febriyanti (2023) dan Fihirudin (2022) dimana menyatakan bahwa ekstraksi dengan menggunakan kit memiliki kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi dengan menggunakan metode *boiling*.^{6,18}

Pada hasil ekstraksi dengan menggunakan kit komersial dengan menggunakan metode *spin column*, sampel dengan nomor 1, 2, 5, dan 20 menunjukkan hasil kemurnian yang rendah. Ini bisa didapatkan kemungkinan karena didapakkannya kontaminasi protein pada saat melakukan ekstraksi. Pada umumnya ekstraksi dengan menggunakan prinsip *spin column*/kit komersial dengan melalui tahapan yang rumit, seperti lisis, *binding*/pengikatan, *washing*/pencucian, dan Elusi. Tahapan-tahapan ini sudah dibuat untuk menghasilkan ekstraksi DNA yang murni tanpa adanya kontaminasi, tetapi hal ini tidak menutup kemungkinan hasil dari kemurniannya adalah rendah. Banyak faktor yang dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi terutama oleh protein, ini dapat terjadi terutama pada tahap pengukuran kemurnian dengan menggunakan alat Nanodrop seperti, kesalahan terhadap tahap analisis, ketidakakuratan pada saat proses pemipetan, dan kelalaian teknis lainnya.¹⁸

Analisis Perbedaan Kuantitas DNA dengan Metode *Boiling* dan Kit Komersial

Penelitian ini mendapatkan rata-rata kuantitas/konsentrasi untuk metode kit komersial lebih tinggi dibandingkan dengan metode *boiling*. Uji statistik menunjukan bahwa perbedaan yang signifikan antara kedua metode ekstraksi untuk menilai konsentrasi ($p=0,00$; $p<0,05$). Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Febriyanti (2023) yang menyatakan perbandingan konsentrasi Kit Komersial dan Metode *boiling* memiliki perbedaan yang signifikan.¹⁸

Metode ekstraksi DNA telah berkembang dari yang dulunya mudah dan murah hingga yang sekarang menggunakan kit komersial. Ekstraksi DNA digunakan untuk mendapatkan ekstrak DNA

untuk digunakan dalam tahapan lanjutan seperti reaksi rantai polimerase (PCR). Komponen ekstrak DNA yang digunakan harus memiliki kualitas dan kuantitas yang tinggi sehingga amplifikasi dapat berlangsung dengan cepat. Perbedaan kuantitas dalam masing-masing konsentrasi juga dipengaruhi oleh perlakuan fisik yang diberikan serta kemampuan buffer lisis untuk memecah sel. Perlakuan fisik yang berlebihan dapat terjadi selama proses pipeting, ketika larutan dicampur di microtube dengan cara yang berbeda, proses setrifugasi, dan proses vortex, yang menyebabkan kerusakan komponen DNA dan kuantitas DNA yang rendah.¹⁹

Hasil uji konsentrasi pada penelitian ini yang lebih tinggi pada kit komersial dimana memiliki rata-rata sekitar 17.1 ng/ μ L dibandingkan dengan metode *boiling* yang memiliki rata-rata sekitar 7.1 ng/ μ L, hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan Fihirudin (2022) menemukan untuk rata-rata dari konsentrasi dengan menggunakan metode *boiling* dengan menggunakan suhu 95°C adalah 0.94 ng/ μ L, sedangkan untuk rata-rata konsentrasi dari Kit komersial yang berbasis spin column adalah sebesar 2.49 ng/ μ L. Metode ekstraksi dengan menggunakan kit komersial menunjukan hasil yang lebih tinggi disebabkan oleh pemisahan DNA dari sel dilakukan dalam tiga tahapan utama yaitu, lisis dinding sel, pemisahan materi genetik (DNA) dari bagian sel lain seperti protein, karbohidarat, dan lemak, kemudian pemurnian DNA. Tiga tahapan ekstraksi ini menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih tinggi daripada metode ekstraksi *boiling*. Pada penggunaan *spin column* pada kit komersial juga sangat mempengaruhi hasil dari banyak sedikitnya komponen DNA tunggal pada sampel yang diisolasi.⁶ Konsentrasi yang tinggi pada suatu isolat DNA, dapat dipengaruhi oleh adanya kontaminasi. Adanya DNA dari genom lain yang mungkin terbawa secara tidak sengaja melalui reagen, peralatan, atau berbagai kondisi laboratorium adalah salah satu kontaminan yang dapat mempengaruhi sampel. Oleh karena itu, penting untuk memperhatikan faktor-faktor tersebut dan harus dilakukan untuk kontrol yang ketat untuk memastikan hasil dari konsentrasi dari sampel.¹⁸

Analisis Perbedaan Integritas DNA dengan Metode *Boiling* dan Kit Komersial

PCR sendiri merupakan singkatan dari *Polymerase Chain Reaction* yang merupakan

metode enzimatik dengan prinsip melipatgandakan DNA secara eksponensial pada sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro* dalam rentang sekitar 25 hingga 40 siklus reaksi. PCR merupakan metode biologi molekuler yang digunakan untuk mendeteksi suatu penyakit, salah satunya dapat mengamplifikasi bagian asam nukleat tertentu yang spesifik dari *M. tuberculosis*. PCR juga memiliki sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi bakteri *M. tuberculosis* dari sampel sputum.^{6,20}

Hasil pemeriksaan pada penelitian ini didapatkan bahwa sampel sputum yang diekstraksi dengan menggunakan metode *boiling* pada suhu 95°C dengan lama waktu 10 menit, dapat teramplifikasi dengan metode PCR konvensional dan pita DNA muncul pada panjang sekuens 210 bp. Hal ini juga sejalan seperti pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fihirudin (2022) juga berhasil mengamplifikasi PCR dengan menggunakan suhu optimum untuk metode ekstraksi DNA dari sampel sputum yaitu 95°C. Pada penelitian yang dilakukan oleh Afif (2019) juga dapat memvisualisasikan ekstraksi DNA menggunakan metode *boiling* pada suhu 95°C dan dengan waktu sekitar 15 menit.^{6,21}

Pada hasil penelitian dengan menggunakan elektroforesis terdapat 2 sampel negatif (-) pada metode *boiling* dan terdapat 8 sampel negatif (-) metode kit komersial. Hasil amplifikasi PCR dari kedua metode ekstraksi DNA dapat tidak divisualisasi pada saat melakukan proses elektroforesis disebabkan karena beberapa penyebab, pertama proses pemipetan reagen yang tidak akurat menentukan hasil dari amplifikasi PCR, kedua pada saat proses elektroforesis harus diperhatikan ketebalan dari gel agarose agar marker dan sampel dapat terpisah secara sempurna.⁶

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada aspek kualitas dan kuantitas DNA, dimana rata-rata kit komersial di kedua aspek lebih tinggi dibandingkan dengan metode *boiling*. Pada aspek integritas DNA tidak terdapat perbedaan yang signifikan, dan rata-rata metode *boiling* lebih tinggi dibandingkan dengan kit komersial.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih peneliti ucapkan kepada semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan dan menyempurnakan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Sibero HT. Pendekatan klinis infeksi tuberkulosis kutis pada kulit. J Kedokt Univ Lampung. 2022;6(1):7-10. doi: 10.23960/jkunila.v6i1.pp7-10
2. Anggelina P. Pola permukiman masyarakat pesisir dalam hubungannya terhadap penyebaran penyakit tuberkulosis [skripsi]. 2018.
3. World Health Organization. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization; 2023.
4. Ghina DF, Djam'an A, Darsana A, Taufiq A. Ekstraksi DNA *Salmonella typhi* menggunakan metode boiling. J Ris Kesehat Poltekkes Depkes Bandung. 2019; 11(1): 350-357. doi: 10.34011/juriskesbdg.v11i1.762
5. Rasyid SA. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* metode PCR pada sputum perokok aktif dengan riwayat kontak serumah penderita TB. J MediLab Mandala Waluya. 2020;4(1):79-89.
6. Fihiruddin, Ilmi FH, Khusuma DA. Variasi temperatur boiling pada amplifikasi gen *inhA* *Mycobacterium tuberculosis* metode PCR. J Ilm Multi Sci. 2022;14(2):57-62. doi: 10.30599/jti.v14i2.1661
7. Widaningsih Y, Amin I, Sennang N, Bahrin U, Arif M. *Mycobacterium tuberculosis* dan PCR. Indones J Clin Pathol Med Lab. 2012;18(3):179-83. doi: 10.24293/ijcpml.v18i3.756
8. Renaning RZZGD. Perbandingan kualitas dan kuantitas DNA *Escherichia coli* hasil ekstraksi menggunakan kit komersial berbasis filter dengan metode alkaline lysis [skripsi]. 2021.
9. Romlah S, Naully PG, Nurasyiah S. Perbandingan efektivitas metode isolasi DNA (boiling water dan CTAB) pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pros Pertem Ilm Nas Penelit Pengabd Masy. 2018;1(1):627-34.
10. Dairawan M, Shetty PJ. The evolution of DNA extraction methods. Am J Biomed Sci Res. 2020;8(1):39-45. doi: 10.34297/AJBSR.2020.08.001234
11. Adhyatma IGR, Darwinata AE, Hendrayana MA, Fatmawati NND. Amplifikasi sekuens IS6110 dengan ekstraksi DNA metode pemanasan (rapid boiling) untuk identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Udayana. 2020;9(2):93-9. doi:10.24843.MU.2020.V9.i2.P16
12. Afif R, Putri DH. 16S rRNA Gene Amplification Of Endophytic Bacteria Which Produces Antimicrobial Compounds. Serambi Biol. 2019;4(1): 48-53. doi: 10.24036/5328RF00
13. Bañuls AL, Sanou A, Van Anh NT, Godreuil S. *Mycobacterium tuberculosis*: ecology and evolution of a human bacterium. J Med Microbiol. 2015 Nov;64(11):1261-1269. doi: 10.1099/jmm.0.000171.
14. Vinayananda CO, Fairoze MN, Madhavaprasad CB, Gowda SMB, Nagaraj CS, Karabasanavar N. Studies on occurrence, antibiogram and decontamination of *Salmonella enterica* in table eggs. Int J Curr Microbiol App Sci. 2017;6(3):2163-2175. doi: 10.20546/ijcmas.2017.603.247
15. Khorshidi A, Rohani M, Moniri R, Torfeh M. Comparison of culture and microscopic methods by

- PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum. Arch Clin Infect Dis. 2009;4(4):228–232.
16. Priyanka VA. Deteksi cemaran daging babi pada produk sosis sapi di Kota Yogyakarta dengan metode polymerase chain reaction [skripsi]. 2017:1–17.
 17. Shi R, Lewis RS, Panthee DR. Filter paper-based spin column method for cost-efficient DNA or RNA purification. PLoS One. 2018 Dec 7;13(12):e0203011. doi: 10.1371/journal.pone.0203011.
 18. Febriyanti I, Djuminar A, Merdekawati F, Indra AIN. Comparison of purity and concentration values of *Mycobacterium tuberculosis* DNA extraction result from boiling and spin column methods. Indones J Med Lab Sci Technol. 2023;5(2):133–145. doi: 10.33086/ijmlst.v5i2.4771
 19. Faradisa MA, Aini N, Risandiansyah R. Perbandingan metode isolasi DNA filter-based kit, alkaline lysis, dan heat treatment berdasarkan kuantitas dan kualitas pada *Candida albicans*. J Kedokt Komunitas. 2021;8(2):1–12.
 20. Mahon CR, Lehman DC. Diagnostic microbiology. 6th ed. St. Louis (MO): Elsevier Saunders; 2019. p. 220–557.