

SKRIPSI

**ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA
Staphylococcus aureus HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN
DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL**



Oleh:

NI MADE DIYAH WAHYUNI SARASWATI

NIM. P07134221062

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

SKRIPSI

**ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA
Staphylococcus aureus HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN
DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL**

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Program Studi Sarjana Terapan**

Oleh:

**NI MADE DIYAH WAHYUNI SARASWATI
NIM. P07134221062**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI

ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA *Staphylococcus aureus* HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL

Oleh:

NI MADE DIYAH WAHYUNI SARASWATI
NIM. P07134221062

TELAH MENDAPAT PERSETUJUAN

Pembimbing Utama:



Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed.
NIP. 196804202002122004

Pembimbing Pendamping:



Ida Ayu Made Sri Arjani, S.IP., M.Erg.
NIP: 196209111985022001

MENGETAHUI:

KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR



I Gusti Ayu Sri Dhyana Putri, S.KM., M.PH.
NIP: 197209011998032003

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI DENGAN JUDUL

**ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA
Staphylococcus aureus HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN
DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL**

Oleh:

NI MADE DIYAH WAHYUNI SARASWATI

NIM. P07134221062

TELAH DIUJI DIHADAPAN TIM PENGUJI

PADA HARI : SELASA

TANGGAL : 29 APRIL 2025

TIM PENGUJI :

1. Nyoman Mastra, S.KM., S.Pd., M.Si.

(Ketua
Penguji)

2. Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed

(Anggota
Penguji 1)

3. I Nyoman Gede Suyasa, S.KM., M.Si.

(Anggota
Penguji 2)

MENGETAHUI:

**KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**


I Gusti Ayu Sri Dhyana Putri, S.KM., M.PH.
NIP. 197209011998032003

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Made Diah Wahyuni Saraswati
NIM : P07134221062
Program Studi : Sarjana Terapan
Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis
Tahun Akademik : 2024/2025
Alamat : Banjar Tengah, Desa Sobangan, Kec. Mengwi, Kab.
Badung, Bali

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul “Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* Hasil Isolasi Metode Perebusan Dengan Modifikasi Presipitasi Etanol” adalah benar karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Skripsi ini bukan karya saya sendiri atau plagiat hasil karya orang lain, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Mendiknas RI No. 17 Tahun 2010 dan ketentuan perundang undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 07 Mei 2025

Yang membuat pernyataan



Ni Made Diah Wahyuni Saraswati
NIM. P07134221062

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puja dan puji syukur saya panjatkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas Asung Kertha Wara Nugraha-Nya karena telah memberikan kekuatan dan kelancaran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktu yang telah ditentukan.

Ucapan terima kasih terdalam saya sampaikan kepada keluarga, terutama kedua orang tua saya yang telah memberikan dukungan, motivasi, doa terbaik serta menyisihkan finansial nya, sehingga saya dapat menyelesaikan studi saya. Terima kasih juga pada Kakak, Ipar dan Keponakan atas doa dan dukungannya yang selalu menyertai penulis dalam perjalanan studi ini.

Rasa terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada para dosen atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan selama masa perkuliahan dan penulisan skripsi ini. Secara khusus, terima kasih kepada kedua dosen pembimbing saya yang telah memberikan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Yang teristimewa, terima kasih kepada Rama atas cinta, dukungan dan semangat yang selalu mengiringi setiap langkah penulis dalam perjalanan skripsi ini. Tak lupa rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada sahabat SMA dan teman-teman seperjuangan STR B. Terima kasih atas segala tawa, hiburan dan dukungan yang telah kalian berikan.

Sejatinya tiada lembar yang paling indah dalam laporan skripsi ini kecuali lembar persembahan. Skripsi ini hanya sebagian kecil dari ilmu pengetahuan yang luas, namun saya berharap dapat menjadi inspirasi dan bagian dari karya selanjutnya yang lebih baik.

Karya ini sepenuhnya saya persembahkan bagi semua orang yang membutuhkan, semoga dapat membantu dan bermanfaat.

-Terima Kasih-

RIWAYAT PENULIS



Penulis bernama Ni Made Diah Wahyuni Saraswati, lahir di Denpasar pada tanggal 12 Desember 2002. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara yang dilahirkan oleh pasangan I Nyoman Wihmajaya (ayah) dan Ni Ketut Sugiantini (ibu). Penulis memulai pendidikan pada tahun 2008-2010 di TK Kartika VII-13 Denpasar. Pada tahun 2010-2016 penulis melanjutkan pendidikan jenjang Sekolah Dasar di SD Saraswati 1 Denpasar. Pada tahun 2016-2018 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 6 Denpasar. Pada tahun 2018-2021 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Mengwi. Pada tahun 2021 penulis menyelesaikan pendidikan di SMA dan melanjutkan pendidikan di Poltekkes Kemenkes Denpasar Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

**ANALYSIS OF PURITY AND CONCENTRATION OF
Staphylococcus aureus DNA ISOLATED BY BOILING METHOD WITH
MODIFIED ETHANOL PRECIPITATION**

ABSTRACT

Background Pneumonia is an infectious disease caused by *Staphylococcus aureus*. Bacterial identification currently performed molecularly using PCR, which requires DNA isolation. The method of DNA isolation by cell boiling can be used. However, this method still requires modification in the form of adding an ethanol precipitation step. **Aim** of the study was to determine the results of the purity and concentration analysis of *Staphylococcus aureus* DNA isolated using the cell boiling method with ethanol precipitation modification. **Method** employed an experimental Posttest Only Control Group design using simple random sampling. Data were analyzed using the Independent Samples T-Test. **Result** qualitative test yielded 32 samples (100%) positive for detection of 16S rRNA gene. The quantitative test for cell boiling isolation without ethanol precipitation modification yielded an average concentration 61.4 ng/μl and a purity 2.24. For cell boiling isolation with ethanol precipitation modification, the average concentration 10.4 ng/μl and purity 1.32. Significant difference was found between the treatment groups, as evidenced by the results of the Independent Samples T-Test with a significant p-value 0.000. **Conclusion** The cell boiling isolation method without ethanol precipitation modification resulted better DNA purity and concentration compared to the isolation method with ethanol precipitation modification.

Keyword: DNA purity, DNA concentration

**ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA
Staphylococcus aureus HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN
DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL**

ABSTRAK

Latar belakang Pneumonia merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Identifikasi bakteri kini dilakukan secara molekuler menggunakan PCR yang memerlukan isolasi DNA. Metode isolasi DNA dengan perebusan sel dapat digunakan, namun metode ini masih membutuhkan modifikasi berupa penambahan tahap presipitasi etanol. **Tujuan** penelitian untuk mengetahui hasil analisis kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* hasil isolasi metode perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol. **Metode** penelitian eksperimen desain *Posttest Only Control Group* dengan menggunakan *simple random sampling*. Data dianalisis dengan uji Independent Sample T-Test. **Hasil** uji kualitatif didapatkan 32 sampel (100%) positif terdeteksi gen 16S rRNA. Uji kuantitatif pada isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol didapatkan rata-rata konsentrasi 61,4 ng/μl dan kemurnian 2,24. Pada isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol didapatkan rata-rata konsentrasi 10,4 ng/μl dan kemurnian 1,32. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan yang dibuktikan melalui hasil uji statistik Independent Sample T-Test dengan didapatkan nilai signifikan 0,000. **Simpulan** metode isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol menghasilkan kemurnian dan konsentrasi DNA lebih baik dibandingkan metode isolasi dengan modifikasi presipitasi etanol.

Kata kunci: kemurnian DNA, konsentrasi DNA

RINGKASAN PENELITIAN

ANALISIS KEMURNIAN DAN KONSENTRASI DNA *Staphylococcus aureus* HASIL ISOLASI METODE PEREBUSAN DENGAN MODIFIKASI PRESIPITASI ETANOL

Oleh: Ni Made Diyah Wahyuni Saraswati (P07134221062)

Pneumonia merupakan penyakit yang menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas di negara maju dan negara berkembang seperti di Indonesia dengan jumlah kasus pada tahun 2023 sebanyak 13.859 orang. Pneumonia paling banyak disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada masa sekarang, identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui pendekatan molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction*. Dalam identifikasinya memerlukan proses isolasi DNA. Metode isolasi yang digunakan dengan teknik perebusan sel pada suhu tinggi, namun berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan teknik ini memerlukan modifikasi dengan penambahan tahap presipitasi etanol. Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hasil analisis kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* hasil isolasi metode perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol.

Penelitian ini dilakukan menggunakan pendekatan kuantitatif dengan jenis penelitian *True Experiment*. Rancangan yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design* yang terdiri dari dua kelompok. Sampel yang digunakan merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengambilan sampel dilakukan secara *simple random sampling*. Data yang dikumpulkan berupa data primer dari pengujian langsung di laboratorium. Data yang dihasilkan merupakan data kualitatif dari pendaran pita DNA di gel Elektroforesis dan data kuantitatif dari hasil pengukuran kemurnian dan konsentrasi isolat DNA *Staphylococcus aureus* dengan spektrofotometer Nanodrop.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pada uji kualitatif dengan *Polymerase Chain Reaction* pada hasil isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol dan isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol sebanyak 32 sampel (100%) positif terdeteksi adanya gen 16S rRNA. Hasil ini ditunjukkan dengan ditemukannya *band* tunggal, tebal dan tidak terdegradasi (*smear*) dengan ukuran 1.500 bp pada semua sampel, kecuali pada control negatif.

Pada uji kuantitatif dengan spektrofotometer Nanodrop pada hasil isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol didapatkan konsentrasi dengan rata-rata 61,4 ng/ μ l dan kemurnian dengan rata-rata 2,24. Pada uji kuantitatif pada hasil isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol didapatkan konsentrasi dengan rata-rata 10,4 ng/ μ l dan kemurnian dengan rata-rata 1,32. Berdasarkan nilai rata-rata kemurnian dan konsentrasi dari kedua metode yang dilakukan memiliki nilai yang jauh dari kategori ideal.

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan uji statistik Independent Sample T Test didapatkan hasil pada kedua kelompok sampel menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($\text{Sig} < 0,05$) yang menandakan adanya perbedaan yang bermakna antara isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol dan isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol. Perbedaan nilai yang dihasilkan dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya karena rendahnya spesifisitas spektrofotometer Nanodrop. Sehingga diharapkan selanjutnya dapat menggunakan pengujian kuantitatif lainnya yang memiliki spesifisitas lebih baik dari Spektrofotometer Nanodrop seperti metode *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR) dan Quibit. Diharapkan juga untuk mengkaji lebih dalam mengenai variasi konsentrasi etanol, suhu dan durasi inkubasi selama proses isolasi dan presipitasi.

Daftar bacaan: 49 (2013-2024)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Analisis Kemurnian dan Konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* Hasil Isolasi Metode Perebusan Dengan Modifikasi Presipitasi Etanol**. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menemukan banyak kesulitan namun akhirnya dapat terlewati berkat bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Sri Rahayu, S.Tr, Keb, S.Kep, Ners, M.Kes selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk bergabung menjadi mahasiswi Poltekkes Kemenkes Denpasar.
2. Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH., selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
3. Bapak Heri Setiyo Bakti, S.ST, M.Biomed. selaku Ketua Prodi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan yang telah memberikan izin dan dukungan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.

4. Ibu Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed., selaku pembimbing utama yang telah bersedia untuk meluangkan waktu ditengah kesibukannya untuk memberikan bimbingan, pengarahan, koreksi serta dukungan juga motivasi dalam memperbaiki dan menyempurnakan isi skripsi ini. Sehingga penulis mampu melewati kesulitan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Ida Ayu Made Sri Arjani, S.IP., M.Erg., selaku pembimbing pendamping yang senantiasa bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, pengarahan, petunjuk serta masukan guna memperbaiki dan menyempurnakan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen serta staff Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar, yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan selama mengikuti masa pendidikan.
7. Teman-teman mahasiswa Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar dan semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan pengalaman yang penulis miliki. Oleh karena itu diharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dalam perbaikan skripsi ini. Akhir kata, besar harapan penulis agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak yang membacanya.

Denpasar, 07 Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT.....	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
RIWAYAT PENULIS	vi
ABSTRACT.....	vii
ABSTRAK.....	viii
RINGKASAN PENELITIAN.....	ix
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
B. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	11
C. Isolasi DNA.....	14
D. Metode Perebusan dalam Isolasi DNA	18

BAB III KERANGKA KONSEP	25
A. Kerangka Konsep	25
B. Variabel dan Definisi Operasional Variabel	26
C. Hipotesis.....	30
BAB IV METODE PENELITIAN	31
A. Jenis Penelitian	31
B. Alur Penelitian.....	32
C. Tempat dan Waktu Penelitian	32
D. Sampel dan Unit Analisis	33
E. Prosedur Kerja.....	35
F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data.....	43
G. Pengolahan dan Analisis Data	44
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	48
A. Hasil Penelitian	48
B. Pembahasan	55
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	61
A. Simpulan.....	61
B. Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel	29
Tabel 2. Desain Penelitian Posttest-Only Control Group Design	31
Tabel 3. PCR Mix.....	40
Tabel 4. Hasil Identifikasi Gen 16S rRNA pada DNA <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Tabel 5. Hasil Uji Kuantitatif Isolasi Metode Perebusan Tanpa Presipitasi.....	50
Tabel 6. Hasil Uji Kuantitatif Isolasi Metode Perebusan Dengan Presipitasi.....	51
Tabel 7. Hasil Uji Normalitas.....	52
Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas	53
Tabel 9. Hasil Uji Hipotesis	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Multi Gel Electrophoresis System.....	21
Gambar 2. Microvolume Spectrophotometer Nanodrop One	23
Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian	25
Gambar 4. Hubungan Antar Variabel Penelitian	28
Gambar 5. Alur Penelitian.....	32
Gambar 6. Hasil Kualitatif Isolasi Perebusan Tanpa Presipitasi	49
Gambar 7. Hasil Kualitatif Isolasi Perebusan Dengan Presipitasi	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Peminjaman Fasilitas Laboratorium	68
Lampiran 2. Surat Izin Etik Penelitian	69
Lampiran 3. Sertifikat Hasil Uji Kualitatif	71
Lampiran 4. Sertifikat Hasil Uji Kuantitatif	74
Lampiran 5. Hasil Uji Statistik.....	75
Lampiran 6. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	77
Lampiran 7. Hasil Turnitin.....	79
Lampiran 8. Bimbingan Skripsi	80
Lampiran 9. Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi Repository	81

DAFTAR SINGKATAN

16S	: 16 Svedberg (satuan ribosom)
ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
bp	: <i>base pair</i>
DDH ₂ O	: Double Distilled Hidrogen Oxyde (<i>water</i>)
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
dsDNA	: <i>double strain DNA</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
nm	: nano meter
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	: <i>Ribose Nucleic Acid</i>
rRNA	: <i>Ribosomal Ribo Nucleic Acid</i>
rpm	: <i>Rotation per Minute</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
ssDNA	: <i>single strain DNA</i>
TE	: Tris-EDTA
TAE	: Tris Acetate EDTA
TSB	: <i>Tryptic Soy Broth</i>
μl	: mikro liter
UV	: <i>Ultra Violet</i>