SKRIPSI

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI



Oleh:
ANGELINA PRASETIO
NIM. P07134221004

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

SKRIPSI

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI

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

> Oleh : <u>ANGELINA PRASETIO</u> NIM. P07134221004

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

LEMBAR PERSETUJUAN

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI

Oleh:

ANGELINA PRASETIO NIM. P07134221004

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama:

Pembimbing Pendamping:

NIP. 196804202002122004

Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed Cokorda Dewi Widhya Hana Sundari, SKM, M.Si

NIP. 196906211992032004

MENGETAHUI

KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABIRATORIUM MEDIS

POLTEKKES KEMENKES DENPASAR

I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH.

NIP. 197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL:

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI

Oleh ANGELINA PRASETIO NIM. P07134221004

TELAH DIUJI DIHADAPAN TIM PENGUJI PADA HARI: SENIN

TANGGAL: 28 APRIL 2025

TIM PENGUJI:

1. Dr. drg. I Gusti Agung Ayu Dharmawati, M.Biomed

(Ketua Penguji)

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

(Anggota Penguji 1).

3. I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH.

(Anggota Penguji 2)

MENGETAHUI KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.K.M., M.PH

NIP. 197209011998032003

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Angelina Prasetio

NIM : P07134221004

Program Studi : Sarjana Terapan

Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis

Tahun Akademik : 2024/2025

Alamat : Jalan Gatot Subroto no. 1, Amlapura

Dengan ini menyatakan bahwa:

 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 buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 16 April 2025 Yang membuat pernyataan

> Angelina Prasetio NIM. P07134221004

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puja dan puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa yang telah memberikan karunia dan rahmat-Nya sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi dengan baik dan tepat pada waktunya.

Ucapan terima kasih saya ucapkan kepada keluarga saya, terutama Ibu, Ayah, dan Adik yang senantiasa memberikan doa, dukungan, dan motivasi hingga saya bisa sampai di titik ini.

Terima kasih kepada Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, dan pengalaman yang sangat berarti selama masa perkuliahan.

Terima kasih kepada teman-teman yang selalu membersamai saya di setiap perjalanan yang saya lewati. Terima kasih sudah menjadi tempat bersandar dan menuangkan rasa. Terima kasih atas waktu dan dukungan yang kalian berikan sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini.

Terakhir, tak luput pula saya ucapkan terima kasih kepada diri saya sendiri.

Terima kasih karena sudah selalu berusaha dan bertahan sejauh ini, melewati setiap proses yang tidak mudah dan seringkali tidak terlihat oleh orang lain.

Semoga pencapaian ini menjadi pengingat bahwa saya mampu melewati masa – masa sulit dan menjadi langkah awal menuju hal – hal baik di masa depan.

RIWAYAT PENULIS



Penulis bernama Angelina Prasetio, lahir di Denpasar pada tanggal 13 Juli 2003. Penulis beralamat tinggal di Jalan Gatot Subroto, Kecamatan Karangasem, Kabupaten Karangasem. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara yang dilahirkan oleh pasangan Yendra Prasetio, S.T. dan Ni Komang Susi Agustini. Penulis memulai pendidikan pada

tahun 2007 – 2008 di TK Bintang Kejora. Pada tahun 2008 – 2014 penulis melanjutkan pendidikan jenjang Sekolah Dasar di SD Insan Mandiri. Pada tahun 2014-2017 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama SMP N 2 Amlapura. Pada tahun 2017 – 2020 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMA N 2 Amlapura. Pada tahun 2021 – 2025 penulis melanjutkan pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

EFFECTIVENESS OF FILTER PAPER-BASED SPIN COLUMN IN DNA EXTRACTION PROCESS OF Staphylococcus aureus AT VARIOUS CONCENTRATIONS

ABSTRACT

Background: Staphylococcus aureus is a pathogenic bacterium that can cause various infections such as skin abscesses, pneumonia, and endocarditis. One of the molecular identification methods for this bacterium is PCR, which requires a DNA extraction step. Commercial spin columns are commonly used for DNA extraction, but they are expensive and single-use. Aim: This study aimed to evaluate the effectiveness of a homemade filter paper-based spin column for extracting Staphylococcus aureus DNA at various concentrations. Method: This was a quantitative experimental study using a posttest-only control design. DNA extraction was performed on three bacterial concentrations (0.5, 1, and 2 McFarland), followed by PCR detection and DNA quantification using a Nanodrop spectrophotometer. Result: The results showed that the filter paper-based spin column successfully extracted DNA with positive PCR results and increasing DNA concentrations corresponding to higher bacterial densities: 3.33 ng/µL (0.5 McFarland), 4.46 ng/μL (1 McFarland), and 5.21 ng/μL (2 McFarland). Conclusion: However, the DNA purity remained low. Thus, the filter paper-based spin column shows potential as an alternative DNA extraction method, but further optimization is needed, regarding the type of filter paper and reagents.

Keywords: Spin column; filter paper; DNA extraction; *Staphylococcus aureus*

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI

ABSTRAK

Latar belakang: Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti abses kulit, pneumonia, dan endokarditis. Salah satu metode identifikasi molekuler bakteri ini adalah Polymerase Chain Reaction, yang memerlukan proses ekstraksi sebagai tahap awalnya. Spin column komersial umumnya digunakan dalam proses ekstraksi DNA, namun memiliki kekurangan seperti biaya tinggi dan sekali pakai. Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas spin column buatan berbasis kertas saring dalam mengekstraksi DNA Staphylococcus aureus pada berbagai konsentrasi. Metode: Jenis penelitian ini adalah kuantitatif eksperimental menggunakan pendekatan posttest-only control design. Proses ekstraksi dilakukan pada tiga variasi konsentrasi bakteri (0,5; 1; dan 2 McFarland), kemudian hasil ekstraksi diuji melalui PCR dan pengukuran konsentrasi serta kemurnian menggunakan spektrofotometer nanodrop. Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa spin column berbasis kertas saring berhasil mengekstraksi DNA dengan hasil adanya DNA bakteri Staphylococcus aureus yang dideteksi menggunakan metode PCR dan peningkatan konsentrasi DNA seiring bertambahnya konsentrasi bakteri, yaitu 3,33 $ng/\mu L$ (0,5 McFarland), 4,46 $ng/\mu L$ (1 McFarland), dan 5,21 $ng/\mu L$ (2 McFarland). Namun, tingkat kemurnian DNA masih tergolong rendah. Kesimpulan: Dengan demikian dapat disimpulkan spin column berbasis kertas saring memiliki potensi sebagai metode alternatif dalam ekstraksi DNA, namun memerlukan optimalisasi lebih lanjut terkait jenis kertas saring dan reagen yang digunakan.

Kata kunci: Spin column; kertas saring; ekstraksi DNA; Staphylococcus aureus

RINGKASAN PENELITIAN

EFEKTIVITAS PEMAKAIAN SPIN COLUMN BERBASIS KERTAS SARING DALAM PROSES EKSTRAKSI DNA BAKTERI Staphylococcus aureus PADA BERBAGAI KONSENTRASI

Oleh: Angelina Prasetio (P07134221004)

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang umum ditemukan pada infeksi kulit, infeksi sistemik, hingga penyakit berat seperti pneumonia, osteomielitis, dan endokarditis. Mengingat potensi patogeniknya, identifikasi Staphylococcus aureus menjadi langkah penting dalam diagnosis dan penanganan infeksi. Identifikasi dilakukan melalui pendekatan molekuler yang lebih cepat dan spesifik seperti Polymerase Chain Reaction (PCR). Dalam prosesnya, tahap penting yang harus dilalui adalah ekstraksi DNA dengan metode yang umum digunakan yaitu kit ekstraksi komersial berbasis spin column yang sudah dilengkapi dengan campuran reagen, sehingga memungkinkan proses ekstraksi berlangsung dalam waktu relatif singkat serta menghasilkan konsentrasi dan kemurnian DNA yang tinggi. Namun, meskipun efektif, metode ini hanya dapat digunakan sekali (single use) dan biaya yang dibutuhkan sangat mahal. Pembuatan spin column buatan berbasis kertas saring merupakan sebuah pendekatan alternatif yang efektif dan hemat biaya karena kemampuannya dalam melakukan filtrasi, memiliki daya serap tinggi, dan memiliki harga lebih murah, serta ketersediaan yang lebih luas. Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya juga menyebutkan bahwa kertas saring yang terbuat dari serat selulosa dapat menjadi alternatif yang unggul menggantikan bahan berbasis silika untuk pemurnian DNA genom tanaman.

Potensi kertas saring sebagai medium pemurnian memang dikatakan sangat menjanjikan, tetapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan desain dan proses penggunaannya dalam *spin column* terutama untuk proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini mencakup penentuan parameter optimal seperti kemampuan kertas saring dalam mengikat DNA bakteri dilihat dari batas minimal konsentrasi bakteri yang dapat terdeteksi serta kemurnian materi genetik yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas pemakaian *spin column* berbasis kertas saring dalam proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi.

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian kuantitatif eksperimental dengan menggunakan desain posttest-only control design. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah Staphylococcus aureus ATCC 25923 yang telah dikultur dalam media TSB, kemudian dibuat menjadi tiga kelompok berdasarkan konsentrasi bakteri yaitu 0,5; 1; dan 2 McFarland, masing-masing sebanyak 10 pengulangan. Selain itu, disertakan pula dua sampel sebagai kontrol negatif. Spin column buatan dirangkai secara manual dengan memodifikasi tabung centrifuge 0,5 mL, white tip, yellow tip, dan lembaran kertas saring Whatman yang disusun sebagai media filtrasi. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan reagen buatan sendiri berupa lisis buffer, ethanol, dan dua jenis washing buffer, serta TE buffer. DNA hasil ekstraksi kemudian diuji dideteksi dengan Polymerase Chain Reaction yang divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa serta pengukuran konsentrasi dan tingkat kemurnian berdasarkan rasio A260/A280 dan A260/A230 menggunakan spektrofotometer nanodrop.

Hasil elektroforesis menunjukkan keberhasilan amplifikasi DNA pada semua sampel uji, yang ditandai dengan munculnya pita DNA spesifik tanpa *smear* atau pita non-spesifik. Hal ini menunjukkan bahwa spin column berbasis kertas saring mampu mengekstraksi DNA secara efektif dan menghasilkan DNA yang dapat diamplifikasi. Hasil pengukuran konsentrasi DNA menunjukkan peningkatan yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi awal bakteri, dengan rata-rata 3,33 $ng/\mu L$ (0,5 McFarland), 4,46 $ng/\mu L$ (1 McFarland), dan 5,21 $ng/\mu L$ (2 McFarland). Kontrol negatif menunjukkan konsentrasi rata-rata 1,95 ng/μL, yang kemungkinan besar merupakan hasil dari absorbansi kontaminan seperti protein, fenol, atau buffer yang belum tersaring sempurna oleh kertas saring. Pada pengukuran kemurnian DNA, rasio A260/A280 berada pada nilai 1.22 (0,5 McFarland), 1.32 (1 McFarland), dan 1.20 (2 McFarland). yang mengindikasikan adanya kontaminasi protein/fenol, sedangkan rasio A260/A230 berada pada 0.11 (0,5 McFarland), 0.11 (1 McFarland), dan 0.14 (2 McFarland). Sementara itu, pada kontrol negatif, diperoleh nilai rasio A260/A280 sebesar 1.22 dan rasio A260/A230 sebesar 0.10. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun spin column berbasis kertas saring efektif dalam mengekstraksi DNA, namun masih memiliki kelemahan dalam aspek pemurnian DNA dari komponen pengotor.

Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa spin column

berbasis kertas saring dapat digunakan sebagai alternatif murah dan sederhana

untuk ekstraksi DNA dari bakteri Staphylococcus aureus. Metode ini dapat menjadi

solusi bagi laboratorium dengan sumber daya terbatas, khususnya dalam

lingkungan pendidikan atau penelitian dasar. Namun, kelemahan dalam pemurnian

DNA menandakan perlunya optimalisasi lanjutan, baik dari jenis kertas saring lain,

variasi reagen ekstraksi, serta pengujian terhadap berbagai jenis sampel biologis

lainnya guna memperoleh metode yang lebih optimal dan aplikatif dalam dunia

kesehatan dan bioteknologi molekuler. Dengan adanya pengembangan lebih lanjut,

spin column berbasis kertas saring berpotensi menjadi alat pemurnian DNA yang

lebih ramah lingkungan.

Daftar bacaan: 30 (2017 – 2023)

χi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadapan Tuhan yang Maha Esa karena atas berkat rahmat-Nya, penulis dapat menyusun skripsi dengan judul "Efektivitas Pemakaian *Spin Column* Berbasis Kertas Saring dalam Proses Ekstraksi DNA Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi" tepat pada waktunya. skripsi ini dapat diselesaikan bukanlah semata-mata usaha penulis sendiri, melainkan berkat dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Ibu Dr. Sri Rahayu, S.Tr.Keb., S.Kep., Ners., M.Kes., selaku Direktur Poltekkes
 Denpasar yang telah memberikan kesempatan menempuh program Pendidikan
 Sarjana Terapan (D-IV) jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH., selaku ketua jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Denpasar, yang telah memberikan kesempatan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- 3. Bapak Heri Setiyo Bekti, S.ST., M.Biomed, selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan (D-IV) Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar yang telah memberikan bimbingan selama pendidikan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.
- 4. Ibu Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed, selaku pembimbing utama yang telah banyak memberikan masukan, pengetahuan, dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Ibu Cokorda Dewi Widhya Hana Sundari, S.KM., M.Si., selaku pembimbing

pendamping yang telah banyak memberikan masukan, pengetahuan dan

bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.

6. Orang tua, saudara, dan seluruh keluarga penulis yang telah memberikan

dorongan moral maupun material dalam menyelesaikan skripsi ini.

7. Kepada teman dan sahabat penulis yang juga membantu mendukung dan

memberikan semangat serta motivasi kepada penulis selama proses perkuliahan

dan penulisan skripsi ini.

8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak

bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena

itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan

skripsi ini.

Denpasar, 16 April 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL HALAMAN JUDUL.....i LEMBAR PERSETUJUAN ii LEMBAR PENGESAHANiii SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT.....iv LEMBAR PERSEMBAHANv RIWAYAT PENULISvi ABSTRACT......vii ABSTRAK viii RINGKASAN PENELITIANix KATA PENGANTAR xii DAFTAR ISI xiv DAFTAR TABELxvi DAFTAR GAMBARxvii DAFTAR LAMPIRAN.....xviii DAFTAR SINGKATANxix BAB I PENDAHULUAN 1 Latar Belakang......1 A. B.

Tujuan Penelitian......6

C.

D.

BAB I	I TINJAUAN PUSTAKA	7			
A.	Bakteri Staphylococcus aureus	7			
B.	Ekstraksi DNA	. 13			
C.	Metode Spin Column dalam Ekstraksi DNA	. 17			
D.	Polymerase Chain Reaction (PCR)	. 20			
E.	Spektrofotometer Nanodrop	. 21			
BAB I	BAB III KERANGKA KONSEP				
A.	Kerangka Konsep	. 22			
B.	Variabel dan Definisi Operasional	. 23			
BAB I	BAB IV METODE PENELITIAN				
A.	Jenis Penelitian	. 25			
B.	Alur Penelitian	. 25			
C.	Tempat dan Waktu Penelitian	. 26			
D.	Sampel Penelitian	. 26			
E.	Prosedur Kerja	. 28			
F.	Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	. 37			
G.	Pengolahan dan Analisis Data	. 38			
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN					
A.	Hasil	. 40			
B.	Pembahasan	. 42			
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN		52			
A.	Simpulan	. 52			
B.	Saran	. 53			
DAFT	AR PUSTAKA	54			

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional Variabel	23
Tabel 2 Volume Pembuatan PCR Mix	. 34
Tabel 3 Rata – Rata Hasil Pengukuran Konsentrasi Bakteri Hasil Ekstraksi	. 41
Tabel 4 Rata – Rata Hasil Pengukuran Tingkat Kemurnian	
Bakteri Hasil Ekstraksi	. 42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri Staphylococcus aureus	7
Gambar 2. Metode Spin Column Berbasis Kit	16
Gambar 3. Metode Spin Column dalam Ekstraksi DNA	17
Gambar 4. Spin Column Komersial	17
Gambar 5. Spin Column Berbasis Kertas Saring	18
Gambar 6. Kerangka Konsep Penelitian	22
Gambar 7. Alur Penelitian	25
Gambar 8 Spin column buatan berbasis kertas saring	40
Gambar 9 Hasil Elektroforesis Produk PCR	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Etika Penelitian	57
Lampiran 2 Data Hasil Penelitian	59
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian	62
Lampiran 4 Validasi Bimbingan	64
Lampiran 5 Hasil Turnitin	65
Lampiran 6 Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi Repository	68

DAFTAR SINGKATAN

PCR : Polymerase Chain Reaction

qPCR : quantitative-Polymerase Chain Reaction

RT-PCR : Real Time Polymerase Chain Reaction

DNA : Deoxyribonucleic Acid

RNA : Ribonucleic Acid

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

NaCl : Natrium Chloride

TSA : Tryptic Soy Agar

MSA : Mannitol Salt Agar

CA : Columbia Agar

NCBI : National Center for Biotechnology Information

CsCl : Cesium Chloride

EtBr : Ethidium Bromide

dNTPs : Deoxynucleotide triphosphates

dATP : Deoxyadenosine triphosphate

dCTP : Deoxycytidine triphosphate

dGTP : Deoxyguanosine triphosphate

dTTP : Deoxythymidine triphosphate

MgCl₂ : Magnesium Chloride

TSB : Tryptic Soy Broth

UV : Ultra Violet

ATCC : American Type Culture Collection

BSC : Bio Safety Cabinet

NaOCl : Natrium Hipoklorit

EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate

NFW : Nuclease Free Water

TE buffer : Tris-EDTA buffer

TAE buffer : Tris-Acetate-EDTA buffer