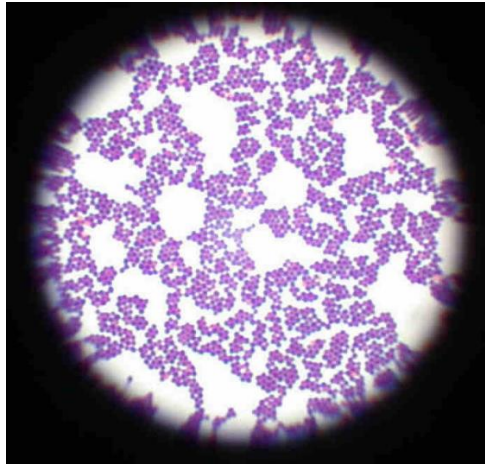


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Soekiman 2015):

<i>Domain</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Kingdom</i>	: <i>Eubacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Bacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Staphylococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Staphylococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat (kokus) yang berkelompok menyerupai anggur, bersifat aerob fakultatif, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 μm dan memiliki tebal dinding sel antara 20-80 nm. Struktur dinding sel *Staphylococcus aureus* terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal serta membran sel tunggal yang mengandung protein, lipid, dan asam *teichoic*. Asam *teichoic* berperan dalam mengatur elastisitas, porositas, kekuatan tarik, serta sifat elektrostatis dinding sel (Kaunang dan Sihombing, 2022).

Koloni *Staphylococcus* berukuran relatif besar dengan diameter kurang lebih 6 – 8 mm dan berwarna bening. Banyak *strain* bakteri ini menghasilkan pigmen berwarna kuning gading atau jingga. *Staphylococcus aureus* tersebar luas di lingkungan dan dapat ditemukan sebagai flora normal pada tubuh manusia, terutama di area aksila, lipatan inguinal dan perineal, serta lubang hidung bagian anterior. Diperkirakan sekitar 25–30% populasi manusia membawa *Staphylococcus aureus* di rongga hidung dan permukaan kulit mereka (Soekiman, 2015).

3. Karakteristik bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif berbentuk *sferis* yang membentuk kelompok tidak beraturan menyerupai anggur. Beberapa spesiesnya berperan sebagai flora normal pada kulit dan membran mukosa manusia, sementara yang lain bersifat patogen dan dapat menyebabkan infeksi seperti supurasi, *abses*, infeksi piogenik, hingga septicemia. Bakteri ini menjadi penyebab infeksi yang paling sering terjadi pada manusia. Hampir setiap individu pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* dalam hidupnya. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan dan

toxic shock syndrome. Jika menyebar dalam tubuh (*diseminata*), bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi serius, seperti *osteomielitis*, *endokarditis*, *pneumonia*, dan infeksi saluran kemih (Valerian dkk., 2019).

Sebagai flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, *Staphylococcus aureus* mengandung *polisakarida* dan protein yang berfungsi sebagai antigen serta sebagai bagian dari struktur dinding selnya. Bakteri ini tidak memiliki *flagela*, bersifat *nonmotil*, dan tidak membentuk spora. Pertumbuhan optimalnya terjadi pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi yang relatif singkat, (1–8 jam). Selain itu, bakteri ini mampu tumbuh dalam rentang pH 4,5–9,3, dengan pH optimal berkisar antara 7,0–7,5. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang memiliki kemampuan *virulensi* tinggi, bersifat invasif, dan menunjukkan ketahanan terhadap antibiotik. Menurut Herlina dkk. (2015), bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari infeksi kulit ringan hingga infeksi sistemik yang serius, termasuk keracunan makanan akibat *enterotoksin* yang diproduksi. Gejala keracunan makanan yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* meliputi kram perut, muntah, dan dalam beberapa kasus disertai diare (Kaunang dan Sihombing, 2022).

Secara fisiologis, *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif, katalase positif, dan oksidase negatif. Bakteri ini mampu bertahan pada suhu tinggi hingga 50°C, memiliki toleransi terhadap kadar garam yang tinggi, serta dapat bertahan dalam kondisi kering. Selain itu, bakteri ini mampu memfermentasi glukosa, terutama menghasilkan asam laktat. Berbeda dengan spesies *Staphylococcus* lainnya, seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk memfermentasi mannitol (Soekiman, 2015).

4. Patogenitas bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus menginfeksi manusia melalui invasi jaringan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi bersumber dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu menyebar melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi tubuh melalui berbagai celah masuk, seperti luka pada kulit, area insisi pascaoperasi, jalur masuk kateter vaskuler, atau bagian tubuh dengan pertahanan yang lemah, seperti eksim atau luka lecet kecil. Infeksi kulit akibat *Staphylococcus aureus* sering kali ditandai dengan pembentukan abses. Dari titik infeksi awal, bakteri ini dapat menyebar melalui aliran darah (*hematogen*), menyebabkan berbagai komplikasi seperti pneumonia, infeksi tulang dan sendi, serta endokarditis akibat aktivitas enzim proteolitiknya. Pada individu dengan sistem imun yang lemah (*immunocompromised*), seperti penderita kanker dengan neutropenia, terapi intravena dapat meningkatkan risiko komplikasi serius, termasuk sepsis yang berakibat fatal akibat bakteremia *Staphylococcus aureus*. Selain itu, pada pasien fibrosis kistik, keberadaan *Staphylococcus aureus* yang persisten dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik (Soekiman, 2015).

5. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara konvensional dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium, diantaranya:

a. Metode konvensional

1) Pewarnaan gram

Pewarnaan gram digunakan untuk mengamati morfologi sel dan menentukan kemurnian bakteri. Teknik ini, yang dikembangkan oleh Christian Gram,

melibatkan proses pewarnaan dengan gentian violet, fiksasi dengan larutan lugol, pelunturan dengan alkohol 95%, dan pewarnaan ulang menggunakan *fuchsin*. Bakteri yang mempertahankan warna ungu dikategorikan sebagai gram positif, sedangkan yang berwarna merah diklasifikasikan sebagai gram negatif (Dewi, 2013).

2) Kultur bakteri

Terdapat beberapa media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA), koloni bakteri akan tampak berwarna kuning akibat pigmen *staphyloxanthin* yang berfungsi sebagai faktor virulensi. Pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA), fermentasi mannitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan pH dan menyebabkan perubahan warna indikator fenol dari merah menjadi kuning. Pada medium *Columbia Agar* (CA) dengan 5% darah domba yang defibrinasi pada suhu 37°C terjadi zona hemolisis-beta yang luas di sekitar koloni (Soekiman, 2015).

3) Uji katalase

Uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dari *Streptococcus*. Tes dilakukan dengan mencampurkan bakteri dengan larutan hidrogen peroksida 3% di atas *object glass*. Pembentukan gelembung gas menunjukkan hasil positif, menandakan adanya aktivitas enzim katalase (Dewi, 2013).

4) Uji koagulase

Uji ini bertujuan untuk mendeteksi enzim koagulase pada dinding sel bakteri. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan gel, sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya gumpalan (Budiyanto dkk., 2021).

5) Uji gula mannitol

Uji ini digunakan untuk menentukan apakah *Staphylococcus* bersifat patogen. Bakteri diinokulasikan pada media yang mengandung mannitol dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan warna menjadi kuning menunjukkan hasil positif, sedangkan warna yang tetap merah menandakan hasil negatif (Budiyanto dkk., 2021).

6) Antibiotogram/antibakteri

Pengujian sensitivitas antibiotik dilakukan dengan mengamati zona hambat di sekitar cakram antibiotik (*paper disk*) pada medium uji. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang diuji (Budiyanto dkk., 2021).

b. Metode molekuler

Identifikasi molekuler banyak digunakan karena menawarkan keuntungan seperti waktu yang lebih singkat, sensitivitas tinggi, dan kemampuan mengidentifikasi bakteri yang tidak dapat dikultur. Salah satu metode yang sering digunakan adalah analisis gen 16S rRNA, yang memiliki panjang sekitar 1.550 *basepair* dan mengandung daerah konservatif (*conserved regions*). Metode ini memungkinkan identifikasi bakteri yang tidak dapat dikultur serta memiliki tingkat akurasi tinggi dalam waktu relatif singkat. Namun, metode ini tidak selalu sesuai untuk semua spesies bakteri (Noer, 2021). Adapun Identifikasi spesifik bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat dilakukan dengan mengamplifikasi gen spesifik yang telah diketahui, diakses melalui Gene Bank di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Genom lengkap dari *Staphylococcus aureus* telah dimasukkan ke dalam basis data dan dapat digunakan

sesuai dengan target gen. Metode PCR memungkinkan identifikasi cepat dalam waktu kurang dari 24 jam, jauh lebih efisien dibandingkan metode konvensional. PCR juga memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi untuk mendeteksi bakteri patogen (Aziz dkk., 2020).

B. Ekstraksi DNA

1. Definisi ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses pemisahan dan pemurnian DNA dari komponen lain dalam sampel biologis. Dalam isolasi DNA, dilakukan homogenisasi serta penambahan *buffer* lisis atau *buffer* ekstraksi untuk mencegah degradasi DNA. Pada sel eukariot, DNA ditemukan di dalam inti sel (nukleus), mitokondria, atau kloroplas, sedangkan pada sel prokariot, DNA terletak di daerah nukleoid yang tidak memiliki membran inti. Proses isolasi DNA bertujuan untuk melepaskan DNA dari membran sel dan menghilangkan komponen organik lainnya. Ekstraksi DNA bertujuan untuk memperoleh DNA murni dengan kualitas tinggi, bebas dari kontaminan seperti protein, lipid, RNA, dan molekul organik lainnya. DNA yang telah diekstraksi dapat digunakan dalam berbagai aplikasi molekuler dan bioteknologi, seperti PCR, kloning, sekuensing, dan analisis restriksi (Setiawan dkk., 2021).

2. Tahapan ekstraksi DNA

Ekstraksi biomolekul seperti DNA, RNA, atau protein merupakan metode dasar yang esensial dalam bidang biologi molekuler. Proses ini menjadi langkah awal dalam penelitian, di mana DNA atau RNA dapat diekstraksi dari berbagai bahan biologis, termasuk jaringan hidup, sel, dan partikel virus. Dalam metode ekstraksi, untai materi genetik dilepaskan dari inti sel sehingga diperoleh DNA

atau RNA murni yang telah terpisah dari cairan seluler serta protein lainnya. Hasil akhir ekstraksi bervariasi tergantung jenis sampel yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan optimasi pada setiap tahap ekstraksi sesuai dengan karakteristik sampel yang digunakan (Setiawan dkk., 2021).

Berikut empat tahapan yang terjadi dalam proses ekstraksi materi genetik (Setiawan dkk., 2021):

- 1) *Lysis*: Tahap pertama dalam pemurnian DNA adalah menghancurkan atau melisis sel untuk melepaskan dinding sel, membran plasma, serta membran pembungkus DNA. Proses ini dapat dilakukan secara mekanik maupun kimiawi. Isolasi DNA bertujuan untuk mendapatkan DNA murni tanpa kontaminasi dari protein, fenol, lemak, karbohidrat, atau RNA. Lisis secara mekanik dapat dilakukan dengan cara memblender atau menggerus jaringan dengan mortar, sedangkan lisis kimiawi dapat menggunakan detergen dan garam dapur untuk memfasilitasi plasmolisis sel.
- 2) *Binding*: Pada tahap ini, DNA atau RNA diikat sehingga dapat dipisahkan dari protein dan senyawa pengotor lainnya.
- 3) *Washing*: DNA atau RNA yang telah terpisah kemudian dicuci agar lebih murni. Biasanya, DNA dicuci menggunakan etanol dingin (70%) untuk menghilangkan garam dan sisa kontaminan.
- 4) *Elate*: Tahap akhir ini bertujuan untuk melarutkan kembali DNA atau RNA yang telah dipisahkan menggunakan larutan *buffer* agar dapat digunakan dalam berbagai analisis lebih lanjut.

3. Metode ekstraksi DNA

a. Metode konvensional

1) Metode CsCl/EtBr

Sejak tahun 1950, *Cesium chloride* (CsCl) dan *Ethidium bromide* (EtBr) telah banyak digunakan dalam ekstraksi DNA. Prinsip utama metode ini didasarkan pada perbedaan densitas antara *ion cesium*, air, dan EtBr, yang memungkinkan pemisahan DNA secara efektif. Namun, metode ini memiliki beberapa kelemahan, seperti waktu pengerjaan yang lama dan penggunaan EtBr yang bersifat toksik. Oleh karena itu, metode CsCl/EtBr tidak lagi digunakan dalam laboratorium klinis.

2) Metode *phenol-chloroform*

Metode *phenol-chloroform* merupakan salah satu teknik ekstraksi DNA tradisional yang paling umum digunakan. Proses ini melibatkan pencampuran larutan *phenol-chloroform* dengan sampel, kemudian dilakukan pemisahan menggunakan sentrifugasi. Dibandingkan dengan metode CsCl/EtBr, teknik ini lebih sederhana dan lebih umum diterapkan di laboratorium klinis karena relatif lebih aman dalam ekstraksi asam nukleat. (Setiawan dkk., 2021).

b. Metode berbasis kit

1) Metode *magnetic beads*

Metode pemisahan menggunakan partikel magnetik merupakan teknik modern yang efisien dalam pemurnian asam nukleat. Saat ini, banyak kit komersial yang menawarkan metode ekstraksi berbasis *magnetic beads* yang lebih cepat dan mudah digunakan. Teknik ini menggunakan prinsip lisis alkali yang dimodifikasi, diikuti dengan pengikatan asam nukleat pada partikel magnetik. Magnet pada alat ekstraksi membantu menangkap partikel magnetik yang telah mengikat asam nukleat,

sementara kontaminan dihilangkan melalui pencucian dengan *buffer* khusus. Selanjutnya, DNA dielusi dari partikel magnet menggunakan *buffer* elusi.

2) Metode *spin column*

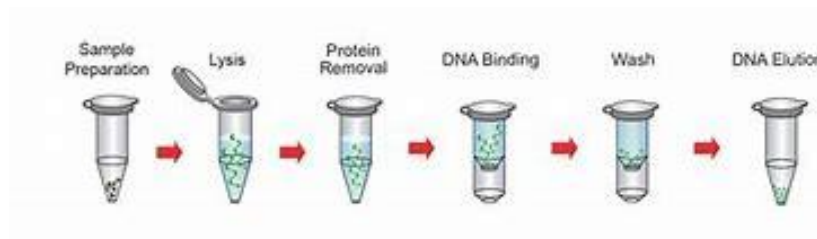


Gambar 2. Metode *Spin Column* Berbasis Kit

Pada tahun 1989, McCormick memperkenalkan metode ekstraksi DNA berbasis partikel silika sebagai alternatif pengganti larutan fenol dalam proses pemurnian. Fungsi silika dalam metode ini serupa dengan fenol dalam memisahkan DNA, tetapi lebih aman dan mengurangi risiko kontaminasi silang. Presipitasi yang terjadi dalam metode *phenol-chloroform* berpotensi menyebabkan kehilangan DNA, yang dapat diminimalkan dengan penggunaan membran silika. Teknologi ini kemudian dikembangkan dalam bentuk tabung *spin column*, yang bekerja dengan bantuan gaya sentrifugal untuk memurnikan DNA.

Metode *spin column* kini menjadi teknik yang umum digunakan dalam kit komersial dengan berbagai variasi yang disesuaikan dengan jenis sampel. Proses pengerjaannya lebih cepat dibandingkan metode konvensional serta menghasilkan DNA yang lebih bersih dan terkonsentrasi. Namun, metode ini memiliki beberapa keterbatasan, seperti harga kit yang relatif mahal dan kapasitas sampel yang terbatas. Hal ini membuatnya kurang cocok untuk ekstraksi DNA dari sampel dengan volume besar atau konsentrasi DNA yang sangat tinggi.

C. Metode *Spin Column* dalam Ekstraksi DNA



Gambar 3. Metode *Spin Column* dalam Ekstraksi DNA

1. *Spin column* komersial dalam ekstraksi DNA



Gambar 4. *Spin Column* Komersial

Spin column komersial adalah alat yang banyak digunakan dalam teknik molekuler untuk memurnikan DNA dari berbagai sumber seperti sampel darah, jaringan, kultur sel, atau bakteri. Metode ini menggabungkan lisis sel, pengikatan DNA ke membran, pencucian kontaminan, dan elusi DNA murni dalam format yang cepat dan efisien. *Spin column* bekerja berdasarkan afinitas DNA terhadap membran silika di bawah kondisi tinggi garam. Secara keseluruhan, *spin column* komersial adalah alat yang sangat andal dan praktis untuk pemurnian DNA dengan kemurnian tinggi, menawarkan keseimbangan antara kemudahan penggunaan, efisiensi, dan kualitas hasil. *Spin column* komersial dirancang untuk sekali pakai, namun biayanya bahkan lebih tinggi dari biaya total banyak metode pemurnian klasik. Banyak laboratorium berupaya mengurangi biaya operasional dengan menggunakan kembali *spin column* atau setelah dekontaminasi dan regenerasi menggunakan peralatan komersial. (Shi dkk., 2018).

2. Inovasi *spin column* berbasis kertas saring dalam ekstraksi DNA



Gambar 5. *Spin Column* Berbasis Kertas Saring

Inovasi *spin column* berbasis kertas saring dalam purifikasi DNA merupakan pendekatan baru yang menggabungkan teknologi *spin column* komersial dengan bahan yang lebih murah dan mudah diakses, seperti kertas saring. Inovasi ini bertujuan untuk menyediakan alternatif yang lebih ekonomis, sederhana, dan ramah lingkungan untuk purifikasi DNA, khususnya di lingkungan dengan sumber daya terbatas atau dalam pengaturan lapangan (*field settings*). *Spin column* berbasis kertas saring menggunakan prinsip yang mirip dengan *spin column* komersial, yaitu pengikatan DNA pada media padat di bawah kondisi tinggi garam, diikuti dengan pencucian kontaminan dan elusi DNA murni. Namun, alih-alih menggunakan membran silika yang mahal, metode ini memanfaatkan kertas saring yang dimodifikasi untuk mengikat DNA. Dengan tersedianya *spin column* berbahan dasar kertas saring yang dapat digunakan kembali atau dibuat sendiri, para peneliti dapat menghemat biaya sumber daya laboratorium. *Spin column* buatan sendiri dapat menghasilkan asam nukleat pada skala yang cukup untuk banyak aplikasi molekuler (Shi dkk., 2018).

3. Aplikasi dan keunggulan *spin column* berbasis kertas saring

Spin column berbasis kertas saring dapat menjadi solusi inovatif untuk purifikasi DNA di berbagai kondisi, terutama untuk pengambilan sampel di daerah terpencil tanpa akses ke laboratorium lengkap. Dapat juga digunakan sebagai diagnostik klinis di negara berkembang, dimana fasilitas dan sumber daya terbatas, tetapi memiliki kebutuhan diagnostik cepat dan akurat. Dalam studi epidemiologi atau surveilans genetik yang memerlukan pemrosesan banyak sampel dengan biaya rendah, *spin column* berbasis kertas saring bisa menjadi jawaban yang tepat. Selain itu, dapat digunakan sebagai alat yang terjangkau untuk pengajaran teknik purifikasi DNA dalam kursus biologi molekuler atau mikrobiologi (Shi dkk., 2018).

Keunggulan dari *spin column* berbasis kertas saring yaitu meminimalisir biaya dalam proses purifikasi DNA. Penggunaan kertas saring jauh lebih murah daripada membran silika. Ini mengurangi biaya keseluruhan dari kit purifikasi DNA, membuatnya lebih terjangkau terutama untuk laboratorium dengan anggaran terbatas atau di negara berkembang. Selain itu, kertas saring adalah bahan *biodegradable* dan ramah lingkungan. Ini mengurangi limbah plastik yang dihasilkan dari penggunaan *spin column* komersial yang berbasis membran silika dan plastik. Metode ini memerlukan peralatan minimum dan bisa lebih cepat, karena tidak memerlukan peralatan laboratorium khusus selain *centrifuge* standar. *Spin column* berbasis kertas saring mudah digunakan di lapangan atau di lingkungan dengan fasilitas laboratorium yang terbatas sehingga tidak memerlukan penyimpanan atau transportasi yang rumit. Dalam beberapa desain, kertas saring dapat digunakan kembali setelah perlakuan tertentu, tergantung pada jenis modifikasi dan protokol yang digunakan (Shi dkk., 2018).

D. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro* yang pertama kali dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1985. Teknik ini memungkinkan penggandaan segmen DNA hingga jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Kehadiran PCR, bersama dengan teknik lain seperti sekuensing DNA, telah membawa revolusi dalam bidang ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya dalam diagnosis penyakit genetik, kedokteran forensik, dan evolusi molekuler (Handoyo dan Rudiretna 2017).

PCR bekerja melalui serangkaian siklus berulang, di mana setiap siklus menggandakan jumlah DNA target untai ganda. Proses ini dimulai dengan pemisahan DNA *template* (*unamplified DNA*) melalui denaturasi termal, kemudian didinginkan hingga suhu tertentu agar primer dapat menempel (*annealing*) pada urutan target DNA. Setelah itu, DNA polimerase memperpanjang primer (*extension*) dengan bantuan dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP) serta buffer yang sesuai. Umumnya, PCR berlangsung dalam 20–40 siklus, dengan peningkatan eksponensial DNA target setelah siklus keempat, sementara DNA non-target bertambah secara linier (Shi dkk., 2018).

Komponen – komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah *template* DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang komplementer dengan DNA *template*; dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*); *buffer* PCR; Magnesium klorida ($MgCl_2$); serta enzim polimerase DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2017).

Untuk memperoleh hasil yang optimal, diperlukan optimasi kondisi reaksi PCR. Faktor yang perlu disesuaikan mencakup jenis DNA polimerase, suhu reaksi, konsentrasi dNTPs, MgCl₂, DNA polimerase, *buffer* PCR, serta durasi reaksi (Handoyo dan Rudiretna, 2017). Adapun faktor penentu keberhasilan PCR antara lain adalah konsentrasi dan kualitas DNA, suhu *annealing* primer, konsentrasi MgCl₂, enzim polimerase, kualitas dan konsentrasi primer, jumlah siklus PCR, dNTPs, serta larutan *buffer* yang digunakan (Setyawati dan Zubaidah, 2021).

E. Spektrofotometer Nanodrop

Spektrofotometer merupakan teknik yang digunakan untuk mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA berdasarkan kemampuannya dalam menyerap cahaya. Molekul DNA dapat menyerap absorbansi maksimum pada panjang gelombang 260 nm (A₂₆₀), sedangkan protein dan fenol menyerap cahaya pada 280 nm (A₂₈₀). Rasio antara absorbansi A₂₆₀/A₂₈₀ dan A₂₆₀/A₂₃₀ digunakan sebagai indikator kemurnian DNA serta mendeteksi keberadaan kontaminan, seperti protein dan fenol, yang mungkin masih tersisa setelah proses ekstraksi DNA. Kemurnian template DNA dilihat dari hasil yang bebas dari kontaminasi protein, polisakarida maupun RNA (Kusumawati dkk., 2023).

Isolat DNA perlu dipastikan memiliki kemurnian tinggi (bebas dari kontaminasi protein, polisakarida, atau RNA) serta integritas yang baik (tidak mengalami degradasi). Nilai kemurnian yang rendah menandakan bahwa tahapan ekstraksi DNA belum sempurna dan masih terdapat banyak kontaminan, seperti protein atau DNA genom. Ketidakmurnian serta rendahnya konsentrasi DNA dapat menghambat penelitian yang melibatkan DNA, menyebabkan hasil yang tidak akurat dan kuantifikasi yang bias (Kusumawati dkk., 2023).