

SKRIPSI

**MODIFIKASI METODE *DRIED BLOOD SPOT* (DBS) DENGAN HIDRASI
BUFFER TRIS-EDTA SEBAGAI MEDIUM TRANSPORT SAMPEL
ANALISIS DNA**



**PUTRI DWI ZAKIRAH FEBRIYANI
PO.71.34.2.21.002**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN PALEMBANG
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN 2025**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Proses ekstraksi DNA melibatkan pelepasan materi genetik dari inti sel untuk memperoleh DNA murni yang terpisah dari cairan seluler dan protein lainnya. Tahapan pertama adalah lisis, yaitu pemecahan sel sehingga DNA/RNA dapat terilisi keluar. Selanjutnya, dilakukan pengikatan (*binding*) proses pengikatan DNA/RNA sehingga dapat terpisah dari protein dan materi pengotor lainnya. Setelah itu, materi genetik menjalani tahap pencucian (*washing*) tahapan pencucian materi genetik DNA/RNA agar terpurifikasi. Terakhir, pada tahap elusi, Tahapan resuspensi dengan penambahan larutan buffer sebagai pelarut dari materi DNA/RNA (Shin, 2021). Teknik pemurnian senyawa yang telah diekstraksi disebut dengan isolasi (Marjoni;, 2022).

Proses isolasi DNA yang ideal harus mampu menghasilkan DNA berkualitas tinggi, baik dari segi kuantitas maupun kemurnian, bebas dari kontaminasi seperti RNA dan protein (Gupta, 2019). Isolat DNA perlu dilakukan pengujian konsentrasi maupun kemurniannya. Pengujian DNA hasil isolasi dapat dilakukan melalui analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan menggunakan teknik elektroforesis pada gel agarosa, dan mengukur rasio A260/A280 menggunakan spektrofotometer UV (Meli, 2015). Menurut Himatyar dalam Mollah et al., (2022), kuantifikasi DNA dilakukan dengan Spektrofotometri UV-Vis: Untuk memperoleh estimasi konsentrasi DNA yang lebih akurat, nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm (A260) umumnya dikoreksi terhadap kontribusi absorbansi non-spesifik, seperti kekeruhan, yang

diukur pada panjang gelombang 320 nm (A_{320}). Persamaan umum yang digunakan adalah: konsentrasi DNA ($ng/\mu L$) = ($A_{260} - A_{320}$) $\times$ faktor konversi $\times$ faktor pengenceran. Faktor konversi untuk dsDNA: 50 $ng/\mu L$. Pengujian kemurnian dan konsentrasi DNA bertujuan untuk mengetahui nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi.

DNA yang telah diekstraksi harus disimpan dalam kondisi yang stabilitasnya terjamin untuk analisis lebih lanjut. Tindakan pembekuan dan pencairan larutan DNA secara berulang harus dipertimbangkan (BSN, 2024). Pada kondisi yang mengharuskan isolat DNA dianalisis dalam periode waktu yang berbeda, maka perlu dibuat aliquot sesuai kebutuhan pemeriksaan. Untuk penyimpanan jangka panjang, DNA dapat disimpan pada suhu -80°C atau direndam dalam nitrogen cair. Perlakuan ini dilakukan untuk mencegah degradasi asam nukleat pada DNA (Regina, 2022), isolat DNA stabil sampai 5 tahun (Adhiyanto et al., 2020).

Dalam proses penyimpanan dan transportasi sampel biologis untuk analisis DNA terdapat beberapa media yang bisa digunakan, diantaranya menggunakan tabung EDTA 2-5 ml atau pada Kartu FTA (konsep *dried*). Penyimpanan dilakukan dalam termos atau kotak thermocol berisi es/pendingin dan segera dibawa ke laboratorium dalam waktu 24-48 jam (Rujito, 2024). Kelemahan dari penggunaan tabung EDTA ini masih harus menggunakan pendingin dan tidak direkomendasikan dikirim pada suhu ruang. Selain itu, transport sampel DNA dapat dilakukan menggunakan DNA *Shield*, DNA/RNA *Shield* merupakan larutan yang berperan sebagai media transportasi dan penyimpanan DNA/RNA untuk menjaga integritas dan ekspresi gen di dalam sampel pada suhu ruang dan

menginaktivasi agen infeksius seperti virus, bakteri, fungi, dan parasit (Mufidah et al., 2024). Lama stabilitas penggunaan DNA Shield relatif berdasarkan suhu, pada suhu 35-40°C stabil hingga waktu 7 hari (Nagel, 2025). Meskipun efektif, DNA shield memiliki keterbatasan berupa biaya yang relatif tinggi dan ketersediaan yang terbatas.

Alternatif medium transport DNA dengan konsep *dried* diperlukan sebagai alternatif yang lebih efektif dan aksesible, studi ini juga didukung secara teoritis. Konsep *dried* lebih umum dengan istilah *Dried blood spot* (DBS), yang dikenalkan oleh Dr. Robert Guthrie pada tahun 1963 sebagai bahan sampel biologis. Seiring berjalannya waktu berbagai aplikasi baru dan inovatif *Dried blood spot* (DBS) muncul, hingga saat ini *Dried blood spot* (DBS) digunakan juga untuk analisis molekuler (Grüner et al., 2015). (Kumar et al., 2019) melakukan proses isolasi DNA dari kertas Whatman untuk penelitian penyakit epidemik menghasilkan konsentrasi DNA dalam rentang 64,8–720 ng/μL. DNA yang diperoleh memiliki kualitas yang memadai dan dapat digunakan untuk analisis lanjutan, seperti PCR. Meskipun sudah berhasil, namun terdapat rentang yang cukup jauh dari hasil konsentrasi DNA yang didapatkan. Maka dari itu, diperlukan optimasi terhadap metode DBS.

Penelitian terdahulu oleh (Choi et al., 2014), Pada hasil analisis ssDNA dari sampel darah kering (DBS) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara sampel yang disimpan pada suhu -80°C selama 2 dan 4 minggu. Terdapat penurunan sebesar 8% pada hasil ssDNA pada periode penyimpanan yang lebih lama. Sebaliknya, sampel DBS yang disimpan pada suhu kamar selama periode yang sama hanya menunjukkan perbedaan sebesar 1%. Temuan ini

mengindikasikan bahwa penyimpanan DBS pada suhu kamar justru memberikan stabilitas yang lebih baik untuk analisis ssDNA dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu sangat rendah (-80°C). Berdasarkan penelitian terdahulu, sudah banyak penelitian yang dilakukan dalam mengoptimasi proses isolasi DNA dari sampel DBS, namun belum ada penelitian yang mengoptimasi metode DBS sebelum diisolasi.

Meskipun DBS stabil dalam mempertahankan konsentrasi DNA pada suhu ruang. Namun hasil konsentrasi masih perlu dioptimasi. Maka dari itu, modifikasi metode pada DBS perlu dilakukan hidrasi dengan pemberian Buffer Tris-EDTA sebagai medium perlindungan untuk isolat DNA selama transportasi pada suhu kamar. Menurut Sudarsono (dalam Triani, 2020), Buffer TE digunakan untuk melarutkan DNA yang telah diisolasi sekaligus melindunginya agar tetap stabil dan tidak mudah rusak. Komponen EDTA di dalam buffer ini bertindak sebagai senyawa pengkelat yang mampu mengikat ion magnesium. Ion magnesium tersebut merupakan kofaktor penting bagi enzim nuklease, sehingga dengan mengikatnya, aktivitas enzim yang dapat merusak DNA dapat dicegah. Pada penelitian (Choi et al., 2014), analisis menunjukkan bahwa penggunaan buffer TE menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih tinggi sekitar 5% dibandingkan dengan buffer PBS. Oleh karena itu, buffer TE dapat dianggap sebagai pilihan yang lebih baik untuk mengoptimalkan hasil isolasi DNA. Sehingga, hasil modifikasi DBS dengan hidrasi buffer TE ini sebagai alternatif untuk mendapatkan isolat DNA dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “**Modifikasi Metode *Dried Blood Spot* (DBS) dengan Hidrasi Buffer Tris-EDTA sebagai Medium Transport Sampel Analisis DNA**”.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana efektivitas modifikasi metode *Dried blood spot* (DBS) dengan hidrasi buffer Tris-EDTA sebagai alternatif dalam transportasi sampel untuk analisis DNA?

C. Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimana distribusi statistik deskriptif konsentrasi dan kemurnian DNA dari sampel *dried blood spot* (DBS) dengan dan tanpa modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang?
2. Bagaimana efektivitas *dried blood spot* (DBS) dengan modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang terhadap konsentrasi DNA?
3. Bagaimana efektivitas *dried blood spot* (DBS) dengan modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang terhadap kemurnian DNA?

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas medium *dried blood spot* (DBS) modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang dalam menjaga stabilitas DNA selama proses pengiriman untuk analisis molekuler.

2. Tujuan Khusus

1. Diketahui distribusi statistik deskriptif konsentrasi dan kemurnian DNA dari sampel *dried blood spot* (DBS) dengan dan tanpa modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang.
2. Diketahui efektivitas *dried blood spot* (DBS) dengan modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang terhadap konsentrasi DNA.
3. Diketahui efektivitas *dried blood spot* (DBS) dengan modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang terhadap kemurnian DNA.

E. Manfaat Penelitian

1. Secara Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi ilmiah yang bermanfaat untuk memperkaya literatur biologi molekuler, khususnya terkait medium transport alternatif yang aksesible dan efektif dalam menjaga konsentrasi DNA selama proses penyimpanan dan transportasi.

2. Secara Aplikatif

1. Bagi Masyarakat

Mendukung peningkatan akses terhadap layanan diagnostik molekuler di wilayah dengan teknologi terbatas dan kebutuhan mobilisasi dalam proses pemeriksaan, dengan menyediakan metode transportasi sampel DNA yang lebih sederhana dan terjangkau.

2. Bagi Instansi Pendidikan

Dapat dijadikan bahan referensi dan pengetahuan khususnya pada mata kuliah Biologi Molekuler di Politeknik Kesehatan Palembang jurusan Teknologi Laboratorium.

3. Bagi Peneliti Selanjutnya

Penelitian ini menjadi dasar bagi pengembangan metode yang lebih maju untuk penyimpanan dan transportasi sampel DNA, serta membuka peluang eksplorasi lebih lanjut mengenai aplikasi kertas saring dalam berbagai jenis sampel dan kondisi lingkungan.

F. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini mencakup bidang Biologi Molekuler yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas medium transport *dried blood spot* (DBS) modifikasi hidrasi buffer TE pada suhu ruang dalam menjaga stabilitas DNA selama proses pengiriman untuk analisis molekuler. Jenis penelitian ini bersifat eksperimen murni. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya pada bulan Maret-April 2025. Sampel yang digunakan terdiri atas metode eksperimen dengan darah yang dikeringkan menggunakan kertas saring hidrasi buffer TE dan metode kontrol dengan darah yang dikeringkan menggunakan kertas saring tanpa hidrasi buffer TE. Teknik pengambilan sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *random sampling*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiyanto, C., Hendarmin, L., dan Puspitaningrum, R. (2020). Pengenalan Dasar Teknik Bio-Molekuler. *Teknik Biomolekuler*, 23–34.
- Ainun, F., Wasdili, Q., Rihibiha, D. D., dan Permana, E. V. (2024). Pemanfaatan Enzim Papain Dari Pepaya Lokal Sebagai Protease Untuk Isolasi Dna Genome Bakteri Dalam Menunjang Pemeriksaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sains*, 12(1), 1–9.
- Ambers, A., Turnbough, M., Benjamin, R., King, J., dan Budowle, B. (2014). Assessment of the role of DNA repair in damaged forensic samples. *International Journal of Legal Medicine*, 128(6), 913–921. <https://doi.org/10.1007/S00414-014-1003-3/FIGURES/7>
- Arib, M. F., Rahayu, M. S., Sidorj, R. A., dan Afgani, M. W. (2024). Experimental Research Dalam Penelitian Pendidikan. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, 4(1), 5497–5511. <https://j-innovative.org/index.php/Innovative/article/view/8468>
- BSN. (2024). *Rancangan Standar Nasional Indonesia ISO 21571:2005* (p. 12). Badan Standar Nasional.
- Choi, E. H., Lee, S. K., Ihm, C., dan Sohn, Y. H. (2014). Rapid DNA Extraction from Dried Blood Spots on Filter Paper: Potential Applications in Biobanking. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 5(6), 351. <https://doi.org/10.1016/J.PHRP.2014.09.005>
- Effendi, Y., dan Pambudi, A. (2018). Pedoman Praktikum Biologi Sel dan Molekuler. *Laboratorium Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia Jakarta*.
- Grüner, N., Stambouli, O., dan Ross, R. S. (2015). Dried Blood Spots - Preparing and Processing for Use in Immunoassays and in Molecular Techniques. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 2015(97), 52619. <https://doi.org/10.3791/52619>
- Gupta, N. (2019). DNA extraction and polymerase chain reaction. *Journal of Cytology*, 36(2), 116–117. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18
- Hidayat, R. (2015). Perbandingan Metode Kit Komersial Dan Sds Untuk Isolasi Dna Babi Dan Dna Sapi Pada Simulasi Cangkang Kapsul Keras Untuk Deteksi Kehalalan Menggunakan Real-Time Pcr (Polymerase Chain Reaction). *Kedokteran Dan Farmasi*, 4(2), 1–13. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/24317>
- Hutami, R., Bisyrri, H., Nuraini, H., Ranasasmita, R., Teknologi Pangan dan Gizi,

- J., dan Ilmu Pangan Halal, F. (2018). Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) DNA Extraction from Raw Meat for Analysis with the Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method. *Jurnal Agroindustri Hala*, 4(2), 209–216.
- Inggris, J. (2025). TE Buffer. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2025(1), pdb.rec11601. <https://doi.org/10.1101/PDB.REC11601>
- Kumar, A., Mhatre, S., Godbole, S., Jha, P., Dikshit, R., dan Li, K. (2019). Optimization of extraction of genomic DNA from archived dried blood spot (DBS): potential application in epidemiological research & bio banking. *Gates Open Research*, 2, 57. <https://doi.org/10.12688/GATESOPENRES.12855.2>
- Marjoni, M. R. (2022). *Buku Teks Fitokimia seri Isolasi*. Trans Info Media.
- Mawardi, A., Maury, H. K., dan Maladan, Y. (2020). Analisis Perbandingan Kualitas Produk Amplikon Gen PMSA2 Antara Spesimen Spot Darah Kering dan Vena. *Jurnal Biologi Papua*, 12(1), 10–18. <https://doi.org/10.31957/jbp.949>
- Meli, -. (2015). Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Ciengang, Kawah Darajat Dan Hydrothermal Vent Kawio. *Repository Universitas Pendidikan Indonesia*. <http://repository.upi.edu>
- Mollah, A., Ashan, M. A., dan Khatimah, A. H. (2022). Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Porang (*Amorphophallus Muelleri* Blume) pada Beberapa Kawasan di Sulawesi Selatan. *Jurnal Agritechno*, 15(01), 1–7. <https://doi.org/10.20956/at.v15i1.688>
- Mufidah, H., Kristanti, H., Anggraeni, D. N., dan Agustin, A. T. (2024). Deteksi Infeksi Hepatitis C pada Donor Darah Sukarela di PMI Sleman Yogyakarta Menggunakan Metode Molekular Detection of Hepatitis C Infection in Voluntary Blood Donors at PMI Sleman Yogyakarta Using Molecular Methods. *Jurnal Laboratorium Medis Penyakit Infeksi Dan Degeneratif*, 3, 26–33.
- Mukhyi, M. A. (2023). *Metodologi Penelitian Panduan Praktis Penelitian Yang Efektif*.
- Mulianasari, I., Yusra, dan Sary, S. K. (2024). Praanalitik Pengambilan Spesimen Urin, Feses dan Dried Blood Spot. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.
- Mushlih, M. (2015). *Buku Ajar Mata Kuliah Statistika “Aplikasi di Dunia Kesehatan”*. Umsida Press.

- Nagel, M. (2025). DNA/RNA Shield TM. Zymo Research, 50(50 ml).
- Nursehang, N. (2024). Perbandingan *Dried Blood Spot* (DBS) Dan Sampel Serum Dalam Mengukur Seroprevalensi Dengue Pada Komunitas Dewasa Sehat Di Kota Makassar. *Repository Universitas Hasanuddin*.
- Panda, B. B., Meher, A. S., dan Hazra, R. K. (2019). Comparison between different methods of DNA isolation from dried blood spots for determination of malaria to determine specificity and cost effectiveness. *Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology*, 43(3), 337. <https://doi.org/10.1007/S12639-019-01136-0>
- Perwitasari, D. A., Noor Faridah, I., Alfiana Ratnasari, Y., Agustina, K., Nisa Utami, I., Maliza, R., Dahlan, A., dan Moewardi, R. (2020). Uji Banding Metode Isolasi DNA Sampel FTA Card menggunakan Kit Wizard [®] Genomic DNA Purification, PureLink [®] Genomic DNA, dan Chelex-100. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(2), 241–245.
- Regina, F. (2022). Kualitas Dna Membran Cangkang Telur Maleo (Macrocephalon Maleo) Berdasar Variasi Metode Isolasi Dna. *E-Journal Universitas Atma Jaya Yogyakarta*.
- Rujito, L. (2024). Genetika Forensik.pdf. *Research Gate, November*.
- Setia, R. A. (2014). Penerapan Model Pembelajaran Kooperatif Tipe Numbered Heads Together (NHT) Terhadap Kemampuan Berpikir Kritis Peserta Didik Pada Mata Pelajaran Kearsipan. *Perpustakaan.Upi.Edu*, 46–70.
- Shen, C.-H. (2023). Nucleic acids. *Diagnostic Molecular Biology*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91788-9.00005-3>
- Shin, J. H. (2021). *Metode Ekstraksi DNA/RNA*. GeneCraft Labs Articles. <https://genecraftlabs.com/metode-ekstraksi/>
- Suriani, N., Risnita, dan Jailani, M. S. (2023). Konsep Populasi dan Sampling Serta Pemilihan Partisipan Ditinjau Dari Penelitian Ilmiah Pendidikan. *Jurnal IHSAN: Jurnal Pendidikan Islam*, 1(2), 24–36. <https://doi.org/10.61104/ihsan.v1i2.55>
- Triani, N. (2020). Isolasi DNA Tanaman Jeruk Dengan Menggunakan Metode Ctab (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *Jurnal Teknologi Terapan: G-Tech*, 3(2), 221–226. <https://doi.org/10.33379/gtech.v3i2.419>
- Van Biesen, N., Cools, P., dan Meyers, E. (2025). Comparison and Optimization of DNA Extraction Methods for Human DNA from Dried Blood Spot Samples. *Pediatric Reports*, 17(2), 30. <https://doi.org/10.3390/PEDIATRIC17020030/S1>

Wakim, S. (2022). *DNA and RNA*. Biology LibreTexts. [https://bio-libretexts-org.translate.goog/Bookshelves/Human_Biology/Human_Biology_\(Wakim_and_Grewal\)/06%3ADNA_and_Protein_Synthesis/6.02%3ADNA_and_RNA?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=sge](https://bio-libretexts-org.translate.goog/Bookshelves/Human_Biology/Human_Biology_(Wakim_and_Grewal)/06%3ADNA_and_Protein_Synthesis/6.02%3ADNA_and_RNA?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=sge)