

**Perbandingan Nilai Pengukuran Kuantitatif Isolat Asam Ribonukleat (RNA) Menggunakan Spektrofotometer Nanodrop dan Mikrodrop pada Sampel Hepar Ayam (*Gallus gallus domesticus*)****Siska Devi Kusumawati<sup>1,4,\*</sup>, Ikhwan Hadianto<sup>1</sup>, Nurlatifah<sup>1</sup>, Adella Alayda Pracoyo<sup>2</sup>,  
Novia Ayu Handayani<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik Fakultas Peternakan UGM, Jl. Fauna No.3 Bulaksumur, Yogyakarta, 55281.<sup>2</sup>Laboratorium Ternak Potong, Kerja, dan Kesayangan, Fakultas Peternakan UGM, Jl. Fauna No.3 Bulaksumur, Yogyakarta, 55281.<sup>3</sup>Laboratorium Ilmu Ternak Unggas, Fakultas Peternakan UGM, Jl. Fauna No.3 Bulaksumur, Yogyakarta, 55281.<sup>4</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Terbuka.

\*corresponding author : siskadevi@mail.ugm.ac.id

Submisi: 11 Agustus 2023; Penerimaan: 6 Oktober 2023

**ABSTRAK**

Asam ribonukleat (RNA) merupakan asam nukleat rantai tunggal hasil transkripsi dari asam deoksiribonukleat (DNA) dan berperan dalam proses ekspresi gen. Kuantifikasi isolat RNA total termasuk analisa rutin yang dilakukan sebelum melakukan analisis lebih lanjut terhadap RNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan nilai pengukuran konsentrasi dan kemurnian hasil isolasi RNA dari hepar ayam menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan mikrodrip plate dan nanodrip. Analisis kuantitatif dilakukan pada 21 sampel hasil ekstraksi RNA dari hepar ayam dengan perhitungan kemurnian dan konsentrasi yang didapatkan dari hasil pembacaan absorbansi pada spektrofotometer nanodrip dan mikrodrip pada panjang gelombang 230, 260, 280, dan 320 nm. Hasil penelitian menunjukkan terjadi perbedaan yang signifikan pada parameter konsentrasi, kemurnian 260/230, dan kemurnian 260/280 dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$  melalui uji statistika Wilcoxon Signed Rank Test. Mikrodrip dapat digunakan sebagai alat untuk kuantifikasi RNA dengan nilai konsentrasi yang lebih tinggi dari nanodrip dan nilai kemurnian yang lebih rendah dari pada nanodrip.

**Kata Kunci :** Hepar; Nanodrip; Mikrodrip; RNA

**PENDAHULUAN**

Asam ribonukleat (RNA) merupakan asam nukleat rantai tunggal yang termasuk hasil transkripsi dari asam deoksiribonukleat (DNA). Asam ribonukleat mengandung suatu informasi kemudian ditranslasi menjadi asam amino yang berperan dalam proses sintesis protein (Sumbono, 2021). Enzim merupakan salah satu molekul protein yang dihasilkan dari ekspresi gen dan berperan dalam proses metabolisme nutrisi di dalam tubuh. Molekul RNA merupakan molekul yang stabil secara

termodinamika, namun, cepat dicerna dengan adanya enzim RNase yang hampir ada di mana-mana (Khansa, 2022).

Hepar ayam berperan dalam proses metabolisme lipid yang diatur oleh enzim (molekul protein) hasil ekspresi gen (Mafruchati, 2023). Analisis ekspresi gen suatu enzim diperlukan tahapan teknik isolasi RNA. Ekstraksi RNA adalah proses untuk mengekstraksi dan memurnikan RNA dari sampel. Proses ekstraksi RNA perlu diperhatikan karena RNA mudah terdigerasi oleh RNase yang terdapat pada lingkungan

terutama jari. Dengan demikian, untuk menganalisis ekspresi gen tersebut, perlu dilakukan isolasi RNA. Uji kuantitas dan kualitas RNA hasil isolasi sebagai langkah awal pengujian teknik *polymerase chain reaction* (PCR), sintesis DNA komplemen (cDNA) dari RNA, serta kuantitas cDNA melalui elektroforesis dan spektrofotometri.

Spektrofotometri merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi dan kemurnian RNA berdasarkan kemampuannya dalam menyerap cahaya atau sumber sinar. Molekul RNA dapat menyerap (absorbansi) cahaya ultraviolet (UV) pada 260 nm (A<sub>260</sub>), sedangkan absorbansi pada 280 nm (A<sub>280</sub>) mengukur protein dan phenol (Gallagher, 2011). Perbedaan absorbansi pada A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>, A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub>, dan A<sub>260</sub>/A<sub>325</sub> digunakan untuk menentukan kemurnian RNA dan keberadaan kontaminan (protein dan fenol) dalam sampel biologis selama proses ekstraksi RNA (Desjardins dan Conklin, 2011; Sukumaran, 2011). Kemurnian template RNA (bebas dari kontaminasi protein, polisakarida maupun DNA) dan integritas RNA merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan sintesis cDNA (Okanti, dkk., 2022).

Kuantifikasi isolat RNA total merupakan analisis rutin yang dilakukan di laboratorium penelitian dan pengujian biologi sebelum melakukan analisis lebih lanjut terhadap RNA pada aplikasi teknik PCR. Isolat RNA perlu dipastikan memiliki kemurnian tinggi (tanpa kontaminan) dan integritas tinggi (tidak terdegradasi) merupakan salah satu titik paling kritis. Nilai kemurnian yang rendah menandakan bahwa tahapan ekstraksi RNA belum sempurna, banyaknya kontaminan yang ikut terbawa, seperti protein dan DNA genom (Sambrook dan Russel, 2001). Ketidakmurnian dan rendahnya konsentrasi dalam isolat RNA

dapat menghambat proses penelitian yang melibatkan RNA dengan memunculkan hasil yang bervariasi dan nilai kuantifikasi yang palsu. Uji kuantitatif RNA dapat dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometri sinar tampak (*Visible*), spektrofotometri ultraviolet (UV), spektrofotometri ultraviolet-tampak (UV-Vis) dan spektrofotometri inframerah. Teknik mikrovolum untuk spektrofotometri merupakan metode yang paling sering digunakan pada pengukuran DNA, RNA, dan protein.

Berdasarkan hasil penelitian Iswahyudi dkk. (2018), nilai rata-rata kemurnian RNA rata-rata sebesar 2 menggunakan spektrofotometer nanodrop, sedangkan hasil penelitian Amanda dan Cartealy (2015) menunjukkan bahwa kemurnian RNA rata-rata 2,21 menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dewanata dan Mushlih (2021), menyatakan bahwa terdapat perbedaan hasil dari pengujian konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan Nanodrop pada sampel DNA.

Belum banyak penelitian menggunakan spektrofotometer UV-Vis mikrovolum dengan *μdrop plate* untuk mengukur kuantitas isolat RNA. Volume sampel hasil isolasi RNA umumnya dalam jumlah sangat sedikit, sehingga diperlukan *μdrop plate* yang memungkinkan penggunaan sampel dengan volume yang kecil. Volume sampel pada penggunaan spektrofotometer UV-Vis dengan mikrodrip *plate* sekitar 2-10  $\mu$ L. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji perbandingan hasil pengukuran kuantifikasi RNA meliputi kemurnian dan konsentrasi pada spektrofotometer nanodrop dan spektrofotometer uv-vis dengan *μdrop/mikrodrip plate*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan pengukuran konsentrasi dan kemurnian hasil isolasi

RNA hepar ayam menggunakan spektrofotometer nanodrop dan spektrofotometer UV-Vis dengan mikrodrip *plate* sebagai metode kuantifikasi isolat RNA.

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Februari 2023 di Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik, Gedung *Animal Science Learning Center*, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada.

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  (Eppendorf, Premium U410), Autoclave (Tomy, SX-500), Mikrosentrifus

(Eppendorf, 5425G), Mikropipet (Eppendorf), Timbang Analitik (Mettler Toledo, ML204T), Vortex Mixer (DLAB), Pinset, Spektrofotometer Nanodrop (MaestroNano@Spectrophotometer) (Gambar 1), Spektrofotometer UV-Vis Mikrodrip (Thermo Scientific™ Multiskan™ Sky) (Gambar 2), cetakan gel, elektroforesis set (Bio-Rad), gelas ukur, spatula, parafilm, dan *imaging system* (Uvitec: Alliance Q9 Advance).

Bahan yang digunakan adalah Sampel 21 hepar ayam (*Gallus gallus domesticus*), Kit ekstraksi Quick-RNA™ Miniprep Kit (Zymo Research), *Proteinase K* (Zymo Research), Etanol Absolut, *Nuclease Free Water*, *microtube* 1,5ml, Serbuk Agarose, Gel stain, Tris-borat EDTA (TBE) 1x, Marker (Smobio: ExcelBand™ 1KB), mikrotip biru, mikrotip kuning, dan mikrotip putih.



Gambar 1. Spektrofotometer Nanodrop (MaestroNano@Spectrophotometer) (Anonim, 2023)



Gambar 2. Spektrofotometer UV-Vis Mikrodrip (Thermo Scientific™ Multiskan™ Sky) (Dokumentasi Pribadi)

## Metode Penelitian

### Ekstraksi RNA

Tahapan isolasi RNA dilakukan pada masing-masing sampel yang akan diuji dengan mengikuti protokol purifikasi RNA Total dari Quick-RNA™ Miniprep Kit (Zymo Research).

### Kuantifikasi isolat RNA dengan Nanodrop

Isolat RNA yang sudah didapatkan dari proses ekstraksi diukur konsentrasi dan kemurniannya pada panjang gelombang 230, 260 dan 280 nm menggunakan Spektrofotometer Nanodrop (MaestroNano@Spectrophotometer) tersaji pada Gambar 1. *Nuclease Free Water* digunakan untuk pengukuran *blanko*. Isolat RNA tersebut disimpan pada suhu -80°C setelah selesai pengujian.

### Kuantifikasi isolat RNA dengan Spektrofotometer UV-VIS $\mu$ Drop

Isolat RNA yang sudah didapatkan dari proses ekstraksi diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Mikrodrop (Thermo Scientific™ Multiskan™ Sky) tersaji pada Gambar 2. Instrumen melakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 230, 260, 280, dan 320 nm. *Nuclease Free Water* digunakan untuk pengukuran *blanko*. Isolat RNA tersebut disimpan pada suhu -80°C setelah selesai pengujian.

### Kualitatif isolat RNA dengan gel agarose 1%

Gel agarose 1% dibuat dengan melarutkan serbuk agarose sebanyak 1 gr dalam 100 ml *Buffer* TBE 1x lalu dipanaskan serta ditambahkan 4  $\mu$ L *gel stain* dan dicetak dalam cetakan gel. Gel agarose selanjutnya dilakukan proses elektroforesis. Sampel isolat RNA sebanyak 6  $\mu$ L ditambahkan 1,2  $\mu$ L

*loading dye* dicampurkan di atas parafilm. Masing-masing campuran isolat dan *loading dye* dimasukkan ke dalam sumuran agar di dalam tangki elektroforesis. Proses elektroforesis dilakukan selama 45 menit dengan voltase konstan 90 volt. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan sinar UV melalui instrumen *Imaging System*.

### Analisis data

Analisis statistika dilakukan dengan uji beda. Terdapat beberapa uji beda yakni uji beda sampel berpasangan parametrik, uji beda sampel berpasangan non parametrik, uji beda sampel tidak berpasangan parametrik, uji beda sampel tidak berpasangan non parametrik. Dalam penentuan parametrik dan non parametrik, perlu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui distribusi data yang sudah ada. Analisa ini dilakukan dengan aplikasi IBM SPSS Versi 25 (Sudjana, 2005).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Spektrofotometri UV-Vis banyak digunakan untuk kuantifikasi asam nukleat. Asam nukleat memiliki puncak serapan cahaya pada panjang gelombang 260 nm dan nilai absorbansi ini digunakan untuk menentukan konsentrasi RNA. Isolasi RNA total dari 21 sampel hepar ayam menghasilkan 21 tabung isolat yang berisi RNA total dari sampel yang siap untuk dilakukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian. Data pengukuran konsentrasi dan kemurnian yang diperoleh dari Spektrofotometer Nanodrop (MaestroNano@Spectrophotometer) dan Spektrofotometer UV-Vis  $\mu$ Drop dianalisis menggunakan SPSS untuk mengetahui perbedaan nyata pada kedua data tersebut.

Hasil pengukuran kemurnian/*purity* RNA disajikan pada Tabel 1. Hasil kemurnian 260/230 dan

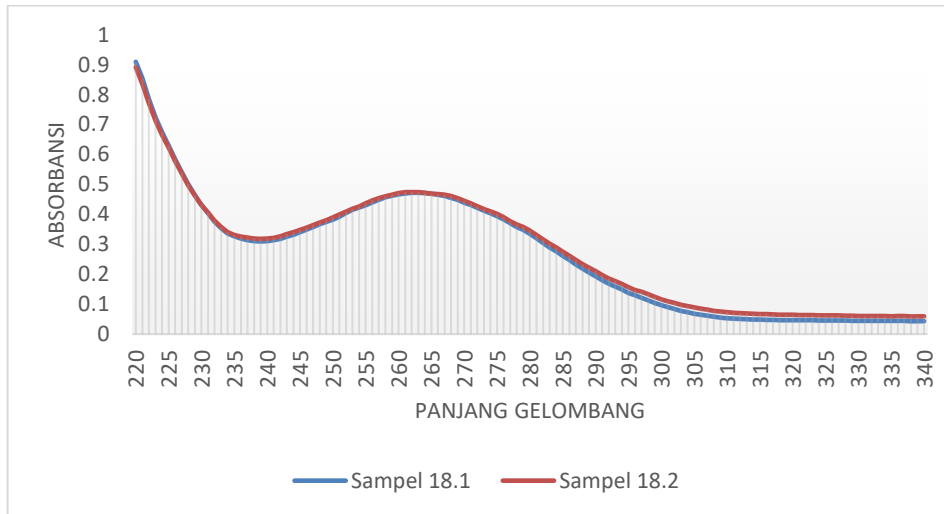
260/280 dengan pengukuran menggunakan nanodrop dan mikrodrip dengan sampel yang sama terdapat perbedaan. Nilai pengukuran kemurnian 260/280 dari mikrodrip memiliki nilai di angka 1,4. Sedangkan nilai kemurnian 260/280 pada nanodrip memiliki nilai di angka 1,8-2,3. Taylor dkk (2010) menyebutkan bahwa nilai kemurnian yang baik adalah di rasio A260/A280 1,8-2,0. Rasio A260/A230 dengan nilai kurang dari 1,8 mengindikasikan adanya kontaminasi. Tabel 1 menunjukkan isolat RNA dengan sampel yang sama diukur dengan nanodrip memiliki nilai kemurnian A260/A280 yang memenuhi kriteria (1,8-2,0), sedangkan jika diukur dengan mikrodrip tidak memenuhi kriteria (<1,8). Pengukuran spektrum memiliki keunggulan dalam menunjukkan kemungkinan kontaminasi sebagai puncak tambahan pada panjang gelombang lain.

Hasil pengukuran spektrum pada sampel isolat RNA nomor 18 sampel yang memiliki nilai kemurnian 260/230 dan 260/280 berturut-turut 1,278 dan

1,423 ditunjukkan pada Gambar 3. Tampak puncak di panjang gelombang 260 nm dan penurunan di panjang gelombang 280 nm, pada panjang gelombang 320 nm tidak menunjukkan puncak. Gallagher (2011) menyebutkan bahwa indikator kemurnian dapat menggunakan rasio pada pembacaan absorbansi di 260 nm dan 280 nm. Protein memiliki puncak serapan pada 280 nm. Apabila kontaminasi terjadi, maka akan menurunkan rasio A260/280. Pengukuran pada panjang gelombang 230 nm yakni untuk menunjukkan kontaminan lainnya seperti garam, senyawa yang mengandung ikatan peptida atau bagian aromatik seperti protein dan fenol juga menyerap di panjang gelombang 230 nm. Pengukuran pada panjang gelombang 320 nm digunakan untuk pengurangan latar belakang untuk menghilangkan kemungkinan garis dasar yang dihasilkan oleh bahan pengganggu atau partikel lain dalam sampel dan kotoran pada *plate* yang digunakan.

Tabel 1. Data hasil pengukuran kuantitatif RNA dengan spektrofotometri

Kode Sampel	Spektrofotometer Nanodrip			Spektrofotometer Mikrodrip		
	260/230	260/280	Konsentrasi (ng/uL)	260/230	260/280	Konsentrasi (ug/mL)
1	2,093	1,875	164,380	2,181	1,423	205,300
2	2,007	1,827	243,880	1,647	1,441	285,300
3	2,043	1,854	128,410	1,130	1,309	160,700
4	1,718	2,399	345,540	1,869	1,430	394,200
5	2,101	1,904	189,370	2,226	1,422	224,000
6	2,056	1,827	188,420	2,126	1,420	222,600
7	2,028	1,848	226,350	1,688	1,448	270,000
8	2,030	1,888	253,480	1,936	1,430	273,300
9	1,673	2,291	324,030	1,466	1,455	378,000
10	2,044	1,885	197,830	1,978	1,427	201,100
11	2,167	1,996	139,750	1,985	1,431	156,700
12	2,136	1,961	165,340	1,639	1,441	197,100
13	2,009	2,075	256,810	1,944	1,438	287,700
14	1,969	1,878	302,700	2,007	1,419	400,100
15	1,916	1,872	205,710	1,796	1,435	227,300
16	2,039	1,827	132,490	2,047	1,425	171,300
17	2,055	1,897	132,470	2,044	1,420	174,200
18	1,951	1,973	179,380	1,278	1,432	187,300
19	1,951	1,954	250,280	1,991	1,427	398,000
20	1,978	1,960	128,410	1,809	1,432	155,800
21	2,079	1,910	254,280	1,943	1,420	362,900



Gambar. 3 Spektrum isolat RNA Nomor 18 diukur dengan Spektrofotometer UV VIS Mikrodrop

Perbedaan lainnya dari pembacaan nilai kemurnian adalah dalam rumus kalkulasinya. Nanodrop menggunakan rumus rasio dari perbandingan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm untuk nilai kemurnian 260/280; perbandingan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 230 nm untuk nilai kemurnian 260/230. Sedangkan mikrodrop menggunakan rumus perbandingan yang sama dengan pengukuran dengan nanodrop namun nilai absorbansi di panjang gelombang 230 nm, 260 nm dan 280 nm dikoreksi dengan pengukuran *blank* dan *background subtraction*. Pengukuran *blank* dilakukan dengan sampel *Nuclease Free Water* sedangkan *background* dilakukan pada panjang gelombang 320 nm. Hasil pembacaan kemurnian pada mikrodrop rendah bisa juga disebabkan karena banyaknya faktor pengurang dalam pembacaanya.

Hasil pengukuran dengan sampel yang sama pada konsentrasi, menunjukkan bahwa konsentrasi RNA cenderung lebih tinggi ketika diukur dengan Spektrofotometer mikrodrop daripada nanodrop. Pengukuran konsentrasi pada instrumen nanodrop

menggunakan rumus yang berbeda dengan mikrodrop Maestro-Nano@Spectrophotometer menggunakan rumus :

$$c = A_{260}/0,025 \text{ atau,} \\ c = A_{260} * 40 \text{ ug/ml}$$

Sedangkan Spektrofotometer UV-Vis Mikrodrop (Thermo Scientific™ Multiskan™ Sky) menggunakan rumus :

$$c = (A_{260} - A_{320}) * ((40 \text{ ug/ml}) / (0.049))$$

Dasar pengukuran kedua instrumen ini menggunakan hukum Lambert-Beer,  $A = \epsilon Cl$  dimana A merupakan nilai absorbansi; C adalah konsentrasi; l merupakan *pathlength* dari spektrofotometer; dan  $\epsilon$  adalah *extinction coefficient*. Koetsier dan Cantor (2019) menyebutkan bahwa *extinction coefficient* telah ditentukan untuk *double-strand* DNA, RNA, dan *single-strand* DNA. Pengukuran konsentrasi RNA menggunakan faktor konversi 40 ug/ml. Perbedaan dari rumus yang digunakan yakni pada penggunaan koreksi *background* dan ukuran *pathlength*. Pengukuran pada mikrodrop menggunakan faktor koreksi panjang gelombang 320 nm dan *pathlength* untuk mikrodrop adalah 0,049 cm. Pada



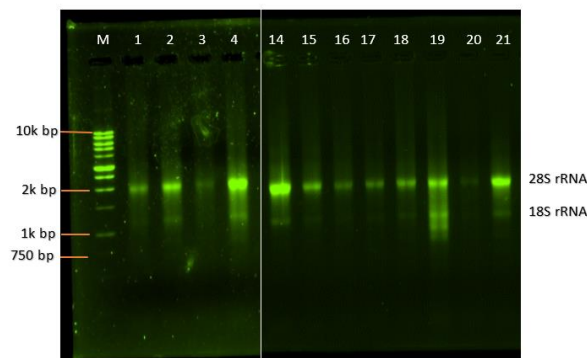
nanodrop yang menggunakan *pathlength* *cuvvete* pada umumnya yakni 1 cm.

Satuan yang digunakan dalam konsentrasi nanodrop dan mikrodrip memiliki nilai yang sama. Pada nanodrip digunakan satuan ng/ $\mu$ l jika dalam angka yaitu  $10^{-9}/10^{-6}$ . Sedangkan pada mikrodrip digunakan satuan  $\mu$ g/ml jika dalam  $10^{-6}/10^{-3}$ . Keduanya memiliki nilai satuan yang sama dan sering digunakan dalam satuan konsentrasi unit. Satuan ng/ $\mu$ l digunakan karena untuk mempermudah interpretasi hasil, karena syarat untuk proses *polymerase chain reaction* (PCR) minimal 10 ng/ $\mu$ l (Ahmad, 2021).

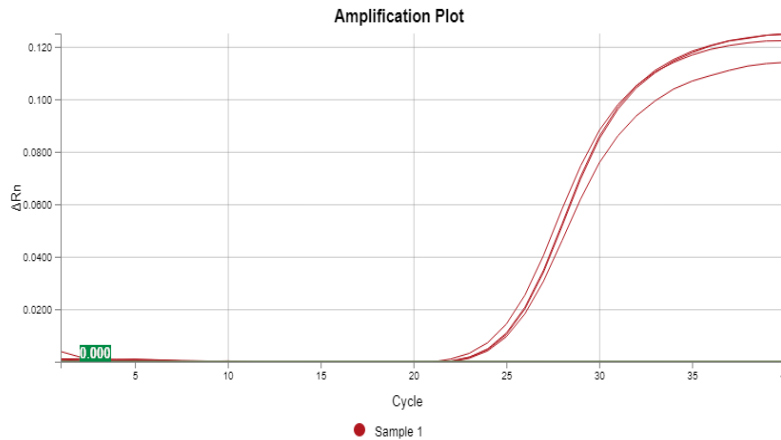
Proses elektroforesis gel digunakan untuk uji kualitatif keberadaan RNA dalam hasil isolat. Pada penelitian ini uji kualitatif dilakukan pada 12 sampel isolat nomer 1-4 dan 14-21 sebagai konfirmasi kualitas RNA berdasarkan pemisahan berdasarkan berat molekul melalui gel agarose. Gambar 4 menunjukkan hasil elektroforesis dari beberapa sampel yang memiliki nilai konsentrasi tinggi dan rendah. Pada hasil pembacaan konsentrasi dengan nanodrip maupun mikrodrip sampel nomor 3 dan 20 memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan yang lain hal ini sejalan dengan hasil elektroforesis Gambar 4 pada *lane* nomor 3 dan 20 yang tampak memiliki pita tipis. Sampel nomor 4, 14 dan 19

memiliki konsentrasi tinggi jika dibandingkan sampel lainnya hal ini juga sejalan dengan hasil elektroforesis yang memiliki pita tebal. Hasil elektroforesis pada semua *lane* juga tidak menunjukkan adanya kontaminasi genom DNA (gDNA). Kualitas RNA dikatakan bagus ketika band 28S/18S ribosom sangat terlihat jelas di gel agarose dengan pita 28S lebih tebal dibandingkan 18S (Schroeder dkk., 2006; Felipe dkk. 2023).

Hasil kuantifikasi ditambah dengan uji konfirmasi kualitatif di gel agarose dari isolat RNA pada semua sampel memenuhi untuk dilakukan pengujian molekuler selanjutnya seperti sintesis cDNA untuk studi qRT-PCR. Pada penelitian Surya dkk. (2023), hasil pengukuran kuantitatif isolat RNA pada sampel serum Tikus untuk penelitian ekspresi gen yakni kemurnian 260/280 di angka 1,8-2,1 dan konsentrasi di angka 921,3 - 3548,0 ng/ $\mu$ l. Gambar 5 menunjukkan bahwa berdasarkan penelitian tesis oleh Aprianto (2023) dengan menggunakan sampel isolat RNA yang sama dengan penelitian ini terdapat hasil amplifikasi pada template cDNA yang digunakan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa dari hasil kuantifikasi isolat RNA menggunakan nanodrip dan mikrodrip dengan hasil seperti Tabel 1, menunjukkan hasil keberhasilan dalam pengujian.



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Gel Agarose 1% Isolat RNA



Gambar 5. Hasil amplifikasi Real Time PCR dengan target gen B-aktin dari template cDNA yang berasal dari isolat RNA Nomor 1.

Tabel 2. Uji Normalitas Data Konsentrasi dan Kemurnian/purity RNA

	Shapiro-Wilk Sig.
Konsentrasi_Nanodrop	0,667
Konsentrasi_Mikrodrop	0,011
Purity260230_Nanodrop	0,003
Purity260230_Mikrodrop	0,040
Purity260280_Nanodrop	0,000
Purity260280_Mikrodrop	0,000

Tabel 3. Uji Wilcoxon Data Konsentrasi dan Kemurnian/purity RNA

	Test Statistics		
	Konsentrasi_Mikrodrop - Konsentrasi_Nanodrop	Purity260230_Mikrodrop - Purity260230_Nanodrop	Purity260280_Mikrodrop - Purity260280_Nanodrop
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,000	0,017	0,000

Pada analisa statistika dilakukan uji normalitas untuk mengetahui jenis pengujian statistika yang dipilih. Data dikatakan normal apabila persyaratan nilai signifikan (Sig) > 0,05. Dalam penelitian ini nilai signifikan yang digunakan untuk pengolahan data adalah dari Shapiro-Wilk karena data yang digunakan kurang dari 50 sampel. Razali dan Wah (2011) menyatakan bahwa untuk sampel yang kurang dari 50 pengujian normalitas menggunakan uji Shapiro dan Wilk. Bila dilihat pada Tabel 2, nilai Sig yang diperoleh pada pengukuran kemurnian 260/230

nanodrop hasilnya < 0,05 yang berarti data bersifat tidak normal sedangkan pada mikrodrop hasilnya > 0,05 yang artinya data bersifat normal. Nilai sig pada kemurnian 260/280 baik itu menggunakan nanodrop atau mikrodrop hasilnya < 0,05 berarti data tidak normal. Nilai Sig pada pengukuran konsentrasi dari nanodrop > 0,05 yang menunjukkan bahwa data normal namun pada pengukuran konsentrasi dengan mikrodrop hasilnya < 0,05 artinya data tidak normal. Jika terdapat data tidak normal pada keseluruhan data yang diuji normalitasnya, maka metode analisis



data statistik yang dipilih adalah statistik non parametrik, yang mana hasil pengujiannya ditunjukkan pada Tabel 3.

Penelitian ini menggunakan analisis data dengan 2 parameter sampel yang berpasangan non parametrik yaitu menggunakan Wilcoxon Signed Rank Test. Berdasarkan hasil analisis SPSS dengan Wilcoxon Signed Rank Test nilai signifikan yang didapatkan dari hasil kemurnian dari rasio 260/230 dan rasio 260/280 dengan menggunakan spektrofotometer nanodrop dan mikrodrops memiliki nilai lebih kecil dari tingkat signifikansi yang ditetapkan yakni 0,05, dalam hal ini memiliki interpretasi H<sub>0</sub> ditolak atau memiliki arti terdapat perbedaan signifikan antara penggunaan spektrofotometer mikrodrops dan nanodrops pada hasil kemurnian dari rasio 260/230 dan rasio 260/280 isolat RNA. Pada hasil konsentrasi dengan menggunakan spektrofotometer nanodrops dan mikrodrops memiliki nilai lebih kecil dari tingkat signifikansi yang ditetapkan yakni 0,05, dalam hal ini memiliki interpretasi H<sub>0</sub> ditolak atau memiliki arti terdapat perbedaan signifikan antara penggunaan spektrofotometer mikrodrops dan nanodrops pada hasil konsentrasi RNA.

## KESIMPULAN

Spektrofotometer UV VIS dengan *µdrop*/mikrodrops *plate* termasuk salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk uji kuantitatif RNA total. Mikrodrops memiliki kecenderungan hasil konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan nanodrops. Mikrodrops memiliki kecenderungan hasil kemurnian yang lebih rendah dibandingkan dengan nanodrops. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan dengan nilai analisis statistika kurang dari 0,05 karena perbedaan nilai

absorbansi, perhitungan dan *pathlength* pada keduanya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada yang mengizinkan dan menyediakan berbagai fasilitas laboratorium yang ada. Terima kasih juga kepada tim atas kerja sama yang baik sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, J. 2021. *Re: What ng/ul should be the minimum amount of DNA isolated for PCR?*. (Online). Tersedia di: [https://www.researchgate.net/post/What\\_ng\\_ul\\_should\\_be\\_the\\_minimum\\_amount\\_of\\_DNA\\_isolated\\_for\\_PCR/60d5c61953c24348b03fd385/citation/download](https://www.researchgate.net/post/What_ng_ul_should_be_the_minimum_amount_of_DNA_isolated_for_PCR/60d5c61953c24348b03fd385/citation/download). Diakses tanggal 1 Juni 2023 jam 23.30
- Amanda, U. D dan I. C. Cartealy. 2015. Isolasi RNA total dari mesokarp buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *Tenera*). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. 1: 171-176*.
- Anonim. 2023. MaestroNano® Pro Spectrophotometer. (Online). Tersedia di : <https://manualzz.com/doc/34313891/maestronano%C2%AE-pro-spectrophotometer>. Diakses tanggal 1 Juni 2023 jam 20.15 WIB.
- Aprianto, M. A. 2023. Pengaruh Suplementasi Minyak Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) Tersaponifikasi Kalsium Terhadap Performan, Profil Biokimia Darah, Kualitas Daging dan Ekspresi Gen Metabolisme Lemak Pada Ayam Broiler. (*Tesis Magister, Universitas Gadjah Mada*)
- Desjardins, P. R., dan D. S. Conklin. 2011. Microvolume quantitation of

- nucleic acid. *Current Protocols in Human Genetics*. 93(1):1–16.
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. 2021. Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 10-21070.
- Felipe, S. M. D. S., Pacheco, C., Martins, J. E. R., Freitas, R. M. D., Oliveira, P. E. G. D., Mendes, S. V. D., ... & Ceccatto, V. M. 2023. Optimization of RNA Extraction Protocol for Rat Skeletal Muscle Samples. *Journal of Applied Life Sciences International*, 26(1), 10-16.
- Gallagher, S. R. 2011. Quantitation of DNA and RNA with absorption and fluorescence spectroscopy. *Current Protocols in Molecular Biology*, 93(1), A-3D.
- Iswahyudi, A. V. Purba and S. Setyahadi. 2018. Pengaruh interaksi ekstrak etanol merinan (*Phyllanthus niruri* L.) dengan glibenklamid terhadap ekspresi gen CYP3A4 pada kultur sel HepG2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5(3): 147–153.
- Khansa, K. 2022. PENGARUH ETANOL TERHADAP EKSPRESI GEN ANTIOKSIDAN sod1 DAN sod2 PADA *Drosophila melanogaster* = THE EFFECT OF ETHANOL ON sod1 AND sod2 ANTIOXIDANT GENE EXPRESSION IN *Drosophila melanogaster*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin.
- Koetsier, G., & Cantor, E. 2019. A practical guide to analyzing nucleic acid concentration and purity with microvolume spectrophotometers. *New England Biolabs Inc*, 1-8.
- Mafruchati, M. 2023. *Ekspresi Gen dan Teknik Biologi Molekuler untuk kajian veteriner*. Sidoarjo: Zifatama Jawara.
- Okanti, J. R., Putri, D. H., & Fathoni, A. 2020. Analysis Of ZDS and LCYb Enzyme Coding Gene Related To Beta Carotene Biosynthesis in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using Reverse transcription PCR (RT-PCR). *Bioscience*, 4(1), 01-10.
- Razali, N. M., & Wah, Y. B. 2011. Power comparisons of shapiro-wilk, kolmogorov-smirnov, lilliefors and anderson-darling tests. *Journal of statistical modeling and analytics*, 2(1), 21-33.
- Sambrook, J. dan Russel, D.W. 2021. *Molecular cloning, a laboratory manual: Edisi III*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sudjana, 2005. *Metoda Statistika Edisi 6*. Bandung: Tarsito
- Sukumaran, S. 2011. Concentration determination of nucleic acids and proteins using the micro-volume bio-spec nano spectrophotometer. *Journal of Visualized Experiments*. 48:1–5. doi: 10.3791/2699
- Sumbono, A. 2021. *Asam Nukleat: Seri Biokimia Pangan Dasar*. Sleman : Penerbit Deepublish..
- Surya, W. A., Ali, H., & Aprilia, D. (2023). Pengaruh Ekstrak Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Ekspresi Interleukin-6 Tikus Diabetes Melitus Gestasional. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 4(2), 109-114.
- Taylor, S., Wakem, M., Dijkman, G., Alsarraj, M., & Nguyen, M. 2010. A practical approach to RT-qPCR—publishing data that conform to the MIQE guidelines. *Methods*, 50(4), S1-S5.
- Thermo Scientific. 2020.  $\mu$ Drop and  $\mu$ Drop Duo Plates: User Manual. (Online). Tersedia di : <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/N12391>. Diakses tanggal 1 Juni 2023 jam 21.30 WIB.