

## RINGKASAN

Penyakit TB merupakan salah satu jenis penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *M. tuberculosis*. Pemanfaatan data genom *M. tuberculosis* hasil dari sekuensing digunakan untuk pengobatan yang presisi serta peningkatan perawatan yang efektif. Ekstraksi adalah langkah awal yang penting dalam penelitian molekuler untuk mendapatkan isolat DNA. Isolat yang diekstrak diharapkan mempunyai kemurnian dan konsentrasi yang tinggi. Saat ini salah satu kajian molekuler yang berkembang pesat adalah WGS atau penentuan urutan genom DNA dari suatu organisme. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu *pretreatment* pada metode ekstraksi *M. tuberculosis* terhadap kualitas DNA untuk pemeriksaan WGS.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler, RSPI Prof. Dr. Sulianti Soroso, Jakarta dari Januari sampai dengan Juni 2023. Desain penelitian ini adalah deskriptif analitis dengan metode ekstraksi berbasis kit dari ExiPrep™ Dx Myobacteria Genomic DNA Kit (K-4418), Bioneer. Penelitian ini terdiri atas variabel bebas dan terikat. Variabel bebas adalah *pretreatment* yang dilakukan dengan pemanasan dan tanpa pemanasan. Variabel terikat adalah kualitas DNA yang meliputi kemurnian, konsentrasi, dan integritas DNA bakteri *M. tuberculosis*. Parameter yang diamati adalah kemurnian, konsentrasi, dan integritas DNA. Data hasil penelitian yang telah diperoleh dianalisis dengan SPSS menggunakan Uji Wilcoxon karena data tidak terdistribusi normal. Analisis statistik dengan Uji Wilcoxon ini dilakukan dengan menggunakan tingkat signifikansi sebesar 0,05 ( $\alpha=5\%$ ).

Hasil penelitian ini adalah kemurnian DNA tidak berbeda (nilai  $p=0,959$ ) antara perlakuan *pretreatment* pemanasan  $95^{\circ}\text{C}$  (2,88) dengan tanpa pemanasan  $95^{\circ}\text{C}$  (2,46). Konsentrasi DNA tidak berbeda (nilai  $p= 0,111$ ) antara perlakuan *pretreatment* pemanasan  $95^{\circ}\text{C}$  (0,416 ng/ $\mu\text{L}$ ) dengan tanpa pemanasan  $95^{\circ}\text{C}$  (0,653 ng/ $\mu\text{L}$ ). Hasil konsentrasi DNA yang relatif rendah menyebabkan pita DNA tidak tervisualisasi pada elektroforesis gel agarosa (0,8%). Oleh karena itu, perlakuan *pretreatment*  $95^{\circ}\text{C}$  tidak berpengaruh terhadap kemurnian dan konsentrasi DNA *M. tuberculosis*. Hasil penelitian ini akan dilanjutkan ke tahap sekuensing (WGS), karena protokol WGS dengan kit Illumina yang memberikan toleransi kemurnian DNA berkisar 1,6-2,2 dan konsentrasi DNA sebesar 0,03 ng/ $\mu\text{L}$ .

Kata kunci: ekstraksi DNA, kualitas DNA, *M.tuberculosis*, *pretreatment* suhu, WGS

## SUMMARY

TB disease is a type of infectious disease caused by bacteria *M.tuberculosis*. Utilization of genomic data *M. tuberculosis* the results of the sequencing are used for precision treatment as well as the improvement of effective treatments. Extraction is an important first step in molecular research to obtain DNA isolates. The extracted isolates are expected to have high purity and concentration. Currently one of the rapidly growing molecular studies is WGS or the determination of the DNA genome sequence of an organism. The purpose of this study was to determine the effect of temperature pretreatment on the extraction method *M. tuberculosis* on the quality of DNA for WGS examination.

This research was carried out at the Biomolecular Laboratory, RSPI Prof. Dr. Sulianti Soroso, Jakarta from January to June 2023. The research design is an analytical descriptive with a kit-based extraction method from ExiPrep™ Dx Myobacteria Genomic DNA Kit (K-4418), Bioneer. This study consists of independent and dependent variables. The independent variable is pretreatment performed with heating and without heating. The dependent variable is the quality of the DNA which includes the purity, concentration, and integrity of the bacterial DNAM. *tuberculosis*. Parameters observed were purity, concentration, and DNA integrity. Obtained research data were analyzed with SPSS using the Wilcoxon test because the data were not normally distributed. Statistical analysis using the Wilcoxon test was carried out using a significance level of 0.05 ( $\alpha=5\%$ ).

The results of this study were that DNA purity did not differ ( $p=0.959$ ) between the pretreatment heating  $95^{\circ}\text{C}$  (2,88) with no heating  $95^{\circ}\text{C}$  (2.46). DNA concentration did not differ ( $p$  value = 0.111) between pretreatment heating  $95^{\circ}\text{C}$  (0.416 ng/ $\mu\text{L}$ ) with no heating  $95^{\circ}\text{C}$  (0.653 ng/ $\mu\text{L}$ ). The relatively low DNA concentration resulted in the DNA bands not being visualized on agarose gel electrophoresis (0.8%). Hence, pretreatment  $95^{\circ}\text{C}$  had no effect on the purity and concentration of DNAM. *tuberculosis*. The results of this study will proceed to the sequencing stage (WGS), because the WGS protocol with the Illumina kit provides a tolerance for DNA purity ranging from 1.6 to 2.2 and a DNA concentration of 0.03 ng/ $\mu\text{L}$ .

Keywords: *DNA extraction, DNA quality, M.tuberculosis, temperature pretreatment, WGS*