

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

**Evaluasi Stabilitas Isolat DNA Escherichia coli pada Berbagai Suhu dan
Lama Penyimpanan**



Oleh:

Baterun Kunsah., S.T., M.Si

Anindita Riesti Retno Arimurti, S.Si., M.Si

Mohammad Dicky Prastino

FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS

MUHAMMADIYAH SURABAYA

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>

Tahun 2025

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	2
ABSTRAK	4
BAB I PENDAHULUAN	5
1.1 Latar Belakang.....	5
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 DNA Escherichia coli.....	8
2.2 DNA Genom dan Ekstraksi DNA	8
2.3 Stabilitas DNA.....	8
2.4 Pengaruh Suhu terhadap Stabilitas DNA.....	8
2.5 Pengaruh Lama Penyimpanan	8
2.6 Pemeriksaan Konsentrasi dan Kemurnian DNA	9
2.7 Elektroforesis dan PCR	9
2.8 Kerangka Konseptual	9
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	10
3.1 Tujuan Penelitian.....	10
3.2 Manfaat Penelitian.....	10
BAB IV METODE PENELITIAN.....	11
4.1 Desain Penelitian	11
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
4.3 Populasi dan Sampel.....	11
4.4 Variabel Penelitian	11
4.5 Definisi Operasional	12
4.6 Alat dan Bahan	12
4.7 Prosedur Penelitian	12
4.8 Penilaian Stabilitas DNA.....	13
4.9 Teknik Analisis Data	13

4.10 Etika Penelitian.....	14
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	15
5.1 Gambaran Umum Penelitian	15
5.2 Hasil Konsentrasi DNA.....	15
5.3 Hasil Kemurnian DNA	15
5.4 Hasil Integritas DNA	16
5.5 Hasil PCR	16
5.6 Pembahasan	16
BAB VI RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA.....	18
6.1 Rencana Tahapan Berikutnya.....	18
6.2 Bentuk Tindak Lanjut.....	18
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	19
7.1 Kesimpulan.....	19
7.2 Saran	19
DAFTAR PUSTAKA.....	20
LAMPIRAN	21

ABSTRAK

Stabilitas DNA merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan pemeriksaan molekuler. Suhu dan lama penyimpanan dapat memengaruhi konsentrasi, kemurnian, integritas, dan kemampuan DNA untuk diamplifikasi. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi stabilitas DNA *Escherichia coli* pada suhu -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C selama 0, 7, 14, dan 28 hari.

Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan 48 aliquot DNA genom *E. coli*. Setiap kombinasi suhu dan lama penyimpanan dibuat dalam tiga replikasi. Parameter yang dinilai meliputi konsentrasi DNA dengan spektrofotometer, rasio A260/A280, integritas DNA melalui elektroforesis gel agarosa, dan keberhasilan amplifikasi target *E. coli* dengan PCR.

Pada data simulasi, konsentrasi rata-rata awal berada pada kisaran 81,85–82,33 ng/ μL . Setelah 28 hari, konsentrasi rata-rata menjadi 81,88 ng/ μL pada -20°C , 81,49 ng/ μL pada 4°C , 81,01 ng/ μL pada 25°C , dan 80,18 ng/ μL pada 37°C . Rasio A260/A280 tetap berada pada kisaran 1,80–1,87. Integritas DNA tetap berada pada skor sekitar 3,9–4,0 dan seluruh aliquot masih menunjukkan amplifikasi PCR positif. Kondisi -20°C memberikan perubahan paling kecil, sedangkan 37°C menunjukkan penurunan konsentrasi paling besar.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa DNA *E. coli* relatif stabil selama 28 hari pada seluruh kondisi yang diuji, tetapi penyimpanan pada suhu rendah lebih disarankan untuk mempertahankan kualitas DNA. Temuan ini sejalan dengan penelitian Wang dkk. yang melaporkan stabilitas DNA *E. coli* pada -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C selama studi percepatan, serta penelitian mengenai stabilitas asam nukleat yang menunjukkan bahwa DNA hasil ekstraksi dapat tetap terdeteksi selama penyimpanan jangka pendek. [1,2]

Catatan: angka pada bagian hasil merupakan DATA SIMULASI yang dibuat untuk melengkapi contoh laporan karena data primer penelitian tidak disertakan dalam permintaan ini. Angka tersebut bukan hasil pemeriksaan laboratorium aktual dan tidak boleh digunakan sebagai bukti kinerja metode.

Kata kunci: *Escherichia coli*; DNA; stabilitas; suhu penyimpanan; lama penyimpanan; PCR.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

DNA merupakan bahan utama dalam berbagai pemeriksaan biologi molekuler. Pada pemeriksaan berbasis PCR, keberadaan DNA target dalam jumlah yang cukup dan dalam kondisi yang baik sangat menentukan keberhasilan amplifikasi. Karena itu, tahap penyimpanan setelah ekstraksi tidak dapat dipisahkan dari rangkaian pemeriksaan.

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang banyak digunakan dalam penelitian mikrobiologi dan biologi molekuler. DNA *E. coli* juga dapat digunakan sebagai bahan kontrol, bahan acuan, maupun template untuk pemeriksaan PCR. Wang et al. (2013) mengembangkan bahan acuan DNA *E. coli* dan melakukan uji stabilitas pada beberapa suhu. Penelitian tersebut melaporkan bahwa kandungan dan kemurnian DNA tidak menunjukkan perbedaan bermakna setelah penyimpanan pada -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C selama empat bulan pada studi percepatan.

Walaupun demikian, stabilitas DNA tidak selalu sama pada semua kondisi. Jenis bahan, konsentrasi DNA, buffer, volume sampel, kualitas tabung, paparan suhu, dan frekuensi freeze-thaw dapat memengaruhi hasil penyimpanan. Hasan et al. (2012) melaporkan bahwa target asam nukleat yang sudah dimurnikan relatif stabil sampai 30 hari pada beberapa kondisi suhu, sedangkan sampel yang belum diekstraksi dapat menunjukkan pengaruh suhu yang berbeda.

Penelitian yang lebih baru juga memperlihatkan bahwa penyimpanan jangka panjang perlu dilihat dari integritas DNA, bukan hanya konsentrasinya. Schumacher et al. (2025) menemukan peningkatan fragmen DNA pendek pada kondisi suhu ruang dan perubahan fragmentasi pada penyimpanan 4°C dalam konteks sampel Pap test. Temuan tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi yang tampak tetap tidak selalu berarti DNA sepenuhnya tidak mengalami perubahan struktur.

Sguazzi et al. (2026) juga menilai DNA ekstrak pada -20°C , 4°C , dan 22°C . Hasilnya menunjukkan bahwa DNA dapat tetap digunakan setelah penyimpanan lama, tetapi perubahan suhu yang berlangsung lebih lama dapat memengaruhi preservasi dan penguapan pada suhu ruang dapat menurunkan konsentrasi.

Di laboratorium, kondisi penyimpanan tidak selalu ideal. Sampel dapat tertahan sebelum pemeriksaan, terjadi penundaan pengiriman, atau freezer digunakan bersama untuk berbagai

jenis bahan. Oleh karena itu, mengetahui perubahan DNA pada beberapa suhu dan lama penyimpanan dapat membantu menentukan kondisi penyimpanan yang paling aman dan praktis.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat perubahan konsentrasi, kemurnian, integritas, dan kemampuan amplifikasi DNA *E. coli* selama penyimpanan. Empat suhu dipilih untuk menggambarkan kondisi penyimpanan beku, dingin, suhu ruang, dan suhu yang lebih tinggi sebagai kondisi stres.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana stabilitas DNA *E. coli* pada suhu -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C selama penyimpanan 0, 7, 14, dan 28 hari?
2. Apakah terjadi perubahan konsentrasi dan kemurnian DNA setelah penyimpanan pada suhu dan lama yang berbeda?
3. Bagaimana integritas DNA dan keberhasilan amplifikasi PCR setelah penyimpanan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah mengevaluasi stabilitas DNA *E. coli* pada berbagai suhu dan lama penyimpanan berdasarkan konsentrasi, kemurnian, integritas, dan kemampuan amplifikasi.

1. Mengukur konsentrasi DNA setelah penyimpanan pada empat kondisi suhu.
2. Menilai kemurnian DNA berdasarkan rasio A260/A280.
3. Menilai integritas DNA menggunakan elektroforesis gel agarosa.
4. Menilai keberhasilan amplifikasi DNA *E. coli* setelah penyimpanan.
5. Menentukan kondisi penyimpanan yang memberikan perubahan kualitas paling kecil.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi laboratorium: menjadi bahan pertimbangan dalam penetapan kondisi penyimpanan DNA.
2. Bagi tenaga laboratorium: membantu memahami pengaruh suhu dan waktu terhadap bahan pemeriksaan molekuler.
3. Bagi institusi pendidikan: menjadi bahan pembelajaran mengenai stabilitas DNA dan faktor pra-analitik pemeriksaan PCR.

4. Bagi peneliti selanjutnya: menjadi data awal untuk penelitian dengan waktu penyimpanan lebih panjang dan metode penilaian integritas yang lebih sensitif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DNA Escherichia coli

Escherichia coli adalah bakteri Gram-negatif yang umum ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Dalam penelitian molekuler, *E. coli* juga sering digunakan sebagai organisme model dan sumber DNA untuk pengembangan bahan acuan. Wang et al. (2013) menggunakan DNA *E. coli* strain BL21 dalam pengembangan bahan acuan nasional dan menilai kandungan, kemurnian, elektroforesis, serta kemampuan q-PCR.

2.2 DNA Genom dan Ekstraksi DNA

DNA genom merupakan materi genetik yang menyimpan informasi biologis suatu organisme. Setelah sel bakteri dilisis, DNA dipisahkan dari protein, lipid, RNA, dan komponen lain. DNA hasil ekstraksi kemudian dapat dilarutkan dalam buffer seperti TE untuk menjaga kondisi kimia yang mendukung kestabilannya.

2.3 Stabilitas DNA

Stabilitas DNA menunjukkan kemampuan molekul DNA untuk mempertahankan jumlah, kemurnian, struktur, dan fungsi analitik selama penyimpanan. Dalam pemeriksaan molekuler, stabilitas tidak cukup dinilai hanya dari konsentrasi. DNA yang terfragmentasi dapat memberikan hasil amplifikasi yang berbeda, terutama ketika target PCR berukuran panjang.

2.4 Pengaruh Suhu terhadap Stabilitas DNA

Suhu dapat memengaruhi laju reaksi kimia, aktivitas nuklease, hidrolisis, serta perubahan fisik selama penyimpanan. Suhu rendah umumnya memperlambat proses degradasi. Namun, DNA murni dalam kondisi buffer yang baik dapat tetap stabil pada suhu yang lebih tinggi untuk periode tertentu. Wang dkk. menunjukkan stabilitas DNA *E. coli* pada beberapa suhu dalam studi percepatan, sedangkan studi lain menunjukkan bahwa penyimpanan jangka panjang pada kondisi tidak ideal tetap perlu dipantau. [1,4]

2.5 Pengaruh Lama Penyimpanan

Semakin lama bahan disimpan, semakin besar kesempatan terjadinya perubahan kimia atau fisik. Perubahan dapat berupa fragmentasi, oksidasi, adsorpsi pada dinding tabung,

penguapan, atau perubahan konsentrasi akibat kehilangan volume. Karena itu, evaluasi pada beberapa titik waktu lebih informatif daripada hanya membandingkan kondisi awal dan akhir.

2.6 Pemeriksaan Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Konsentrasi DNA dapat diperkirakan menggunakan spektrofotometer melalui absorbansi pada 260 nm. Rasio A260/A280 digunakan sebagai gambaran kemurnian relatif terhadap kontaminasi protein. Nilai sekitar 1,8 sering digunakan sebagai kisaran yang baik untuk DNA, meskipun interpretasi harus mempertimbangkan metode dan komposisi sampel.

2.7 Elektroforesis dan PCR

Elektroforesis gel agarosa digunakan untuk melihat integritas DNA berdasarkan pola pita. DNA genom yang relatif utuh cenderung memberikan pita atau massa DNA dengan migrasi terbatas, sedangkan fragmentasi dapat menghasilkan smear. PCR digunakan untuk memastikan bahwa DNA yang disimpan masih dapat digunakan sebagai template amplifikasi. Hasan et al. (2012) menunjukkan pentingnya pengujian stabilitas melalui metode amplifikasi untuk menilai kemampuan target tetap terdeteksi.

2.8 Kerangka Konseptual

DNA E. coli hasil ekstraksi → aliquoting dalam buffer TE → penyimpanan pada -20°C, 4°C, 25°C, dan 37°C → pengamatan hari ke-0, 7, 14, dan 28 → pemeriksaan konsentrasi dan A260/A280 → elektroforesis → PCR → perbandingan stabilitas → penentuan kondisi penyimpanan yang paling stabil.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan memperoleh gambaran perubahan kualitas DNA *E. coli* selama penyimpanan pada empat suhu. Penilaian dilakukan dari sisi kuantitas, kemurnian, integritas, dan kemampuan amplifikasi sehingga hasil tidak hanya bergantung pada satu parameter.

No.	Tujuan khusus	Indikator
1	Mengukur konsentrasi DNA	Nilai ng/ μ L pada setiap titik waktu
2	Menilai kemurnian DNA	Rasio A260/A280
3	Menilai integritas DNA	Skor integritas berdasarkan gel agarosa
4	Menilai kemampuan amplifikasi	PCR positif/negatif
5	Menentukan kondisi paling stabil	Perubahan paling kecil dari hari ke-0

3.2 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat membantu laboratorium memilih kondisi penyimpanan DNA yang sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan, sekaligus menjadi dasar untuk penelitian lanjutan yang menggunakan jumlah sampel lebih besar, waktu penyimpanan lebih panjang, atau teknik fragment analysis yang lebih sensitif.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan pendekatan komparatif. DNA *E. coli* dibagi menjadi aliquot yang setara, kemudian disimpan pada empat suhu. Pemeriksaan dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, dan 28. Setiap kombinasi suhu dan waktu dibuat dalam tiga replikasi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dirancang dilaksanakan di laboratorium biologi molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya. Waktu penelitian direncanakan selama Januari–April 2026, meliputi persiapan, ekstraksi DNA, penyimpanan, pemeriksaan, analisis, dan penyusunan laporan.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah DNA genom *E. coli* hasil ekstraksi. Sampel penelitian berupa 48 aliquot DNA, terdiri atas empat kondisi suhu × empat titik waktu × tiga replikasi. DNA ditempatkan dalam buffer TE dan dibagi menggunakan volume yang sama.

4.4 Variabel Penelitian

No.	Variabel	Jenis
1	Suhu penyimpanan	Bebas
2	Lama penyimpanan	Bebas
3	Konsentrasi DNA	Terikat
4	Rasio A260/A280	Terikat
5	Integritas DNA	Terikat
6	Hasil PCR	Terikat

4.5 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil
Suhu penyimpanan	Temperatur tempat aliquot DNA disimpan.	Termometer/data logger.	-20, 4, 25, 37°C
Lama penyimpanan	Durasi DNA berada pada kondisi penyimpanan.	Catatan waktu.	Hari 0, 7, 14, 28
Konsentrasi DNA	Jumlah DNA dalam volume sampel.	Spektrofotometer.	ng/ μ L
Kemurnian DNA	Rasio absorbansi 260 terhadap 280 nm.	Spektrofotometer.	Rasio
Integritas DNA	Keutuhan DNA berdasarkan pola pita gel.	Elektroforesis.	Skor 1–4
Hasil PCR	Kemampuan DNA menjadi template amplifikasi target E. coli.	PCR dan elektroforesis.	Positif/negatif

4.6 Alat dan Bahan

Alat meliputi mikropipet, mikrotip, microcentrifuge tube, vortex, centrifuge, spektrofotometer, freezer -20°C, refrigerator 4°C, inkubator/ruang bersuhu terkontrol 25°C dan 37°C, perangkat PCR, tangki elektroforesis, power supply, UV/blue-light transilluminator, dan dokumentasi gel. Bahan meliputi DNA E. coli, buffer TE, reagen PCR, primer target E. coli, agarosa, buffer elektroforesis, DNA ladder, dan pewarna DNA.

4.7 Prosedur Penelitian

1. DNA E. coli hasil ekstraksi diperiksa konsentrasinya dan rasio A260/A280 sebagai nilai awal.

2. DNA dihomogenkan dan dibagi menjadi aliquot dengan volume yang sama untuk menghindari pengaruh perbedaan volume.
3. Aliquot ditempatkan pada -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C . Setiap kondisi dibuat tiga replikasi.
4. Pada hari ke-0, 7, 14, dan 28, aliquot sesuai jadwal dikeluarkan untuk pemeriksaan. Sampel yang sudah diambil tidak dikembalikan ke penyimpanan untuk menghindari pengaruh freeze-thaw berulang.
5. Konsentrasi dan rasio A260/A280 diukur. Sebagian DNA digunakan untuk elektroforesis dan PCR.
6. Produk PCR divisualisasikan pada gel agarosa. Hasil dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif.

4.8 Penilaian Stabilitas DNA

Parameter	Kriteria penilaian	Batas penerimaan penelitian
Konsentrasi	Dibandingkan dengan hari ke-0.	Retensi $\geq 90\%$
A260/A280	Kemurnian relatif DNA.	1,80–2,00
Integritas	Pola pita/smeat pada gel.	Skor ≥ 3
PCR	Ada/tidaknya pita target.	Kontrol valid dan sampel positif

Skor integritas: 1 = degradasi berat; 2 = degradasi sedang; 3 = sedikit perubahan; 4 = DNA relatif utuh. Retensi konsentrasi dihitung sebagai konsentrasi akhir dibagi konsentrasi awal $\times 100\%$.

4.9 Teknik Analisis Data

Data disajikan dalam bentuk rerata dan simpangan baku. Perubahan tiap suhu dihitung terhadap nilai hari ke-0. Perbandingan pola perubahan dilakukan secara deskriptif. Jika penelitian aktual dilanjutkan dengan jumlah replikasi yang memadai, analisis statistik dapat menggunakan ANOVA dua arah atau model yang sesuai setelah pemeriksaan asumsi distribusi.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian menggunakan bahan DNA bakteri dan tidak menggunakan identitas pasien. Seluruh kegiatan dilakukan sesuai prosedur keselamatan biologis dan keselamatan kerja laboratorium. Data dan kode sampel dicatat tanpa menggunakan identitas pribadi.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Umum Penelitian

Sebanyak 48 aliquot DNA *E. coli* digunakan dalam empat kondisi suhu dengan empat titik waktu pengamatan. Konsentrasi awal seluruh kelompok berada pada kisaran yang relatif sama sehingga perubahan selama penyimpanan dapat dibandingkan dengan lebih mudah.

5.2 Hasil Konsentrasi DNA

Suhu	Hari	Rerata konsentrasi (ng/ μ L)	SD
-20°C	0	82.02	0.21
-20°C	7	81.90	0.05
-20°C	14	81.97	0.08
-20°C	28	81.88	0.25
4°C	0	81.97	0.16
4°C	7	82.15	0.19
4°C	14	81.73	0.12
4°C	28	81.49	0.15
25°C	0	82.24	0.17
25°C	7	81.72	0.10
25°C	14	81.44	0.17
25°C	28	81.01	0.18
37°C	0	81.89	0.27
37°C	7	81.73	0.03
37°C	14	81.10	0.17
37°C	28	80.18	0.35

Pada hari ke-28, retensi konsentrasi terhadap hari ke-0 adalah 99,8% pada -20°C, 99,4% pada 4°C, 98,5% pada 25°C, dan 97,9% pada 37°C. Penurunan paling besar terjadi pada 37°C, tetapi nilai retensi masih berada di atas batas 90% yang ditetapkan dalam penelitian ini.

5.3 Hasil Kemurnian DNA

Suhu	Hari 0	Hari 7	Hari 14	Hari 28
-20°C	1.85	1.85	1.84	1.84
4°C	1.85	1.87	1.84	1.82
25°C	1.85	1.83	1.83	1.81
37°C	1.86	1.84	1.82	1.80

Rasio A260/A280 berada pada rentang 1,80–1,87. Kelompok 37°C menunjukkan kecenderungan penurunan rasio hingga 1,80 pada hari ke-28, sedangkan kelompok –20°C relatif tetap pada kisaran 1,84–1,85.

5.4 Hasil Integritas DNA

Suhu	Hari 0	Hari 7	Hari 14	Hari 28
-20°C	3.95	4.02	3.96	4.01
4°C	4.01	4.03	3.94	3.95
25°C	4.04	3.99	3.94	3.96
37°C	3.95	3.99	3.89	3.93

Skor integritas tetap berada pada sekitar 3,9–4,0 pada seluruh kelompok. Tidak terlihat perubahan yang mengarah pada degradasi berat. Kondisi ini menunjukkan bahwa dalam rentang 28 hari, perubahan konsentrasi yang terjadi belum diikuti perubahan integritas yang besar.

5.5 Hasil PCR

Suhu	Hari 0	Hari 7	Hari 14	Hari 28	Total positif
-20°C	3/3	3/3	3/3	3/3	12/12 (100%)
4°C	3/3	3/3	3/3	3/3	12/12 (100%)
25°C	3/3	3/3	3/3	3/3	12/12 (100%)
37°C	3/3	3/3	3/3	3/3	12/12 (100%)

Seluruh aliquot tetap menunjukkan amplifikasi target *E. coli*. Kontrol positif dan negatif diasumsikan valid pada setiap batch. Dengan demikian, perubahan konsentrasi yang kecil selama 28 hari belum menyebabkan kegagalan amplifikasi pada kondisi yang diuji.

5.6 Pembahasan

Hasil menunjukkan bahwa DNA *E. coli* relatif stabil selama 28 hari pada empat kondisi suhu. Perubahan paling kecil terlihat pada –20°C, sedangkan perubahan konsentrasi terbesar terlihat pada 37°C. Pola tersebut masuk akal secara laboratorik karena suhu yang lebih tinggi dapat mempercepat berbagai proses yang berpotensi mengubah kualitas bahan.

Temuan ini sejalan dengan penelitian Wang et al. (2013) yang secara khusus menggunakan DNA *E. coli* sebagai bahan acuan. Dalam studi tersebut, DNA disimpan pada –20°C, 4°C, 25°C, dan 37°C selama empat bulan dalam uji percepatan dan tidak ditemukan

perbedaan kandungan maupun kemurnian yang berarti dibandingkan kontrol; DNA pada -20°C juga tetap stabil dalam pemantauan jangka lebih panjang. [1] Dengan demikian, hasil simulasi pada penelitian ini masih berada dalam arah yang konsisten dengan publikasi tersebut.

Hasan et al. (2012) juga menunjukkan bahwa target DNA/RNA yang sudah dimurnikan dapat tetap stabil sampai 30 hari pada beberapa kondisi suhu. Hasil ini mendukung penggunaan pemeriksaan PCR sebagai salah satu cara melihat apakah perubahan penyimpanan sudah cukup besar untuk memengaruhi fungsi analitik DNA. [2]

Di sisi lain, konsentrasi dan hasil PCR tidak selalu menggambarkan seluruh perubahan struktur DNA. Schumacher et al. (2025) menemukan bahwa fragmentasi DNA dapat meningkat selama penyimpanan, terutama pada kondisi suhu ruang, walaupun perubahan tersebut perlu dinilai dengan metode integritas yang lebih sensitif. [3] Karena itu, penelitian lanjutan sebaiknya menambahkan TapeStation, Bioanalyzer, atau pengukuran fragment size jika fasilitas tersedia.

Sguazzi et al. (2026) memperlihatkan bahwa DNA ekstrak dapat bertahan dalam penyimpanan lama pada -20°C , 4°C , dan sekitar 22°C , tetapi penguapan dapat memengaruhi konsentrasi pada suhu ruang dan paparan berkepanjangan pada kondisi baru dapat memengaruhi preservasi. [4] Hal ini penting karena perubahan konsentrasi tidak selalu berasal dari degradasi DNA; kehilangan volume akibat evaporasi juga dapat meningkatkan atau menurunkan konsentrasi terukur.

Röder et al. (2010) menunjukkan bahwa stabilitas standar DNA perlu diperhatikan karena perubahan kecil pada template dapat memengaruhi hasil PCR kuantitatif. Penyimpanan -20°C merupakan salah satu kondisi yang memberikan pergeseran paling kecil dalam studi mereka. Temuan tersebut mendukung penggunaan suhu beku sebagai pilihan yang lebih aman ketika DNA akan disimpan untuk kebutuhan pemeriksaan molekuler.

Secara keseluruhan, hasil menunjukkan bahwa penyimpanan selama 28 hari belum menyebabkan penurunan kualitas yang berarti. Namun, kesimpulan ini tidak boleh diterapkan langsung pada DNA klinis atau semua jenis DNA karena stabilitas dipengaruhi oleh jenis sampel, konsentrasi, buffer, volume, wadah, dan metode pemeriksaan.

BAB VI

RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Rencana Tahapan Berikutnya

1. Mengganti data simulasi dengan data primer hasil pemeriksaan laboratorium.
2. Menambah jumlah replikasi dan memperpanjang titik waktu penyimpanan menjadi 60, 90, dan 180 hari.
3. Menambahkan kondisi -80°C sebagai pembanding penyimpanan jangka panjang.
4. Menilai integritas DNA menggunakan fragment analysis atau TapeStation/Bioanalyzer.
5. Mengukur keberhasilan PCR secara kuantitatif menggunakan real-time PCR sehingga perubahan kecil pada performa amplifikasi dapat terdeteksi.
6. Melakukan evaluasi freeze-thaw untuk melihat pengaruh pembekuan dan pencairan berulang.

6.2 Bentuk Tindak Lanjut

Apabila data primer menunjukkan pola yang konsisten, hasil dapat digunakan sebagai dasar penyusunan rekomendasi penyimpanan DNA di laboratorium. Rekomendasi sebaiknya mencakup pembagian aliquot, pelabelan tanggal penyimpanan, pencatatan suhu, pembatasan freeze-thaw, dan penggunaan kontrol kualitas secara berkala.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

DNA *E. coli* tetap menunjukkan kualitas yang relatif stabil selama 28 hari pada -20°C , 4°C , 25°C , dan 37°C . Konsentrasi DNA mengalami perubahan kecil. Retensi pada hari ke-28 masing-masing sebesar 99,8% pada -20°C , 99,4% pada 4°C , 98,5% pada 25°C , dan 97,9% pada 37°C . Rasio A260/A280 tetap berada pada kisaran 1,80–1,87 dan skor integritas sekitar 3,9–4,0. Seluruh aliquot tetap memberikan hasil PCR positif sehingga kemampuan DNA sebagai template masih terjaga. Di antara kondisi yang diuji, -20°C memberikan perubahan kualitas paling kecil sehingga menjadi kondisi yang paling disarankan untuk penyimpanan DNA apabila pemeriksaan tidak dilakukan dalam waktu dekat.

7.2 Saran

1. Penelitian aktual perlu menggunakan data primer dan jumlah replikasi yang lebih besar.
2. DNA sebaiknya disimpan dalam aliquot untuk mengurangi freeze-thaw berulang.
3. Untuk penyimpanan lebih lama, suhu -20°C atau lebih rendah perlu dipertimbangkan sesuai kebutuhan dan fasilitas laboratorium.
4. Penelitian berikutnya sebaiknya menambahkan pemeriksaan integritas DNA dengan metode fragment analysis dan real-time PCR.
5. Data simulasi pada laporan ini tidak boleh digunakan sebagai pengganti hasil validasi laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Wang L, Rao C, Gao K, Li Y, Fu Z, Bi H, Wang J. (2013). Development of a Reference Standard of *Escherichia coli* DNA for Residual DNA Determination in China. *PLOS ONE*, 8(9), e74166. doi:10.1371/journal.pone.0074166.
- Hasan MR, Tan R, Al-Rawahi GN, Thomas E, Tilley P. (2012). Short-Term Stability of Pathogen-Specific Nucleic Acid Targets in Clinical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(12), 4147–4150. doi:10.1128/JCM.02659-12.
- Schumacher S, Lauesgaard JM, Carlsson T, Linder A, Sundfeldt K. (2025). Optimization of Pre-Analytical Handling to Maintain DNA Integrity in Diagnostic Papanicolaou Tests. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 27(3), 199–208. doi:10.1016/j.jmoldx.2024.12.008.
- Sguazzi G, Alladio E, Cisana S, Garofano L, Garofano P, Linarello P, Omedei M, Salvaderi L, Gino S, Procopio N. (2026). Can DNA withstand the test of time? Exploring degradation across storage conditions. *Forensic Science International: Genetics*, 84, 103520. doi:10.1016/j.fsigen.2026.103520.
- Röder B, Frühwirth K, Vogl C, Wagner M, Rossmanith P. (2010). Impact of Long-Term Storage on Stability of Standard DNA for Nucleic Acid-Based Methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), 4260–4262. doi:10.1128/JCM.01230-10.
- Choi Y, et al. (2021). Long-term stabilization of DNA at room temperature using a one-step microwave assisted process. *Applied Nanoscience*. doi:10.1007/s13204-021-01775-0.
- Protocols for dry DNA storage and shipment at room temperature. (2013). *PLOS ONE*. Studi tersebut membahas stabilitas DNA pada penyimpanan kering dan membandingkannya dengan kondisi 4°C dan –20°C.

LAMPIRAN

