

Anna Rejeki Simbolon

By Diah Ayu Satyari Utami

EKSTRAKSI RNA (RIBO NUCLEIC ACID) PADA JARINGAN MANTLE KERANG BIRU (*Mytilus edulis*) DENGAN METODA YANG BERBEDA

ABSTRAK

Kerang biru (*Mytilus edulis*) merupakan salah satu kelompok bivalvia yang dapat hidup diberbagai kondisi lingkungan bahkan pada tekanan lingkungan yang tinggi, sehingga hewan ini sering digunakan sebagai sentinel spesies pada kondisi lingkungan tertentu. Kemampuan fisiologis hewan ini dalam bertahan hidup diberbagai kondisi lingkungan bahkan didaerah dengan tekanan tinggi masih belum banyak diketahui hingga saat ini. Dengan diperolehnya kualitas dan kuantitas RNA yang baik merupakan tahapan awal yang penting untuk uji molekuler lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode ekstraksi RNA yang tepat dan dapat menghasilkan kualitas dan kuantitas RNA yang baik. Dua metode ekstraksi RNA yaitu menggunakan RNAqueous Phenol-free total RNA Isolation dan TRIzolTM Reagent. Data berupa hasil deskriptif dan kuantitatif, RNA yang telah berhasil diekstraksi dinilai kualitas dan kuantitasnya dengan menggunakan alat Agilent 5300 Fragment Analyzer. Penggunaan metode ekstraksi RNA dengan Kit TRIzolTM Reagent terbukti lebih baik untuk ekstraksi mantel kerang biru dan menghasilkan kualitas dan kuantitas RNA yang baik dengan kriteria antara lain konsentrasi total RNA yang memadai (48.91-392.38 ng/ μ l) dan nilai RQN (RNA Quality Number) yang tinggi (7.6-9.6).

KATA KUNCI: Ekstraksi RNA; Kerang Biru (*Mytilus edulis*); RQN; 28S:18S; Konsentrasi RNA

ABSTRACT

Blue mussels (*Mytilus edulis*) are a group of bivalves that can live in various environmental conditions, even under high environmental pressure, so this animal is often used as a sentinel species in certain environmental conditions. The physiological ability of this animal to survive in various environmental conditions, even in areas with high pressure, is still not widely known until now. Obtaining good quality and quantity of RNA is an important initial stage for further molecular tests. This research aims to determine the appropriate RNA extraction method that can produce good quality and quantity of RNA. Two RNA extraction methods are using RNAqueous Phenol-free total RNA Isolation and TRIzolTM Reagents. The data is in the form of descriptive and quantitative results, the quality and quantity of RNA that has been successfully extracted is assessed using the Agilent 5300 Fragment Analyzer. The use of the RNA extraction method with the TRIzolTM Reagent Kit has proven to be better for extracting blue mussel mantle and produces good quality and quantity of RNA with criteria including adequate total RNA concentration (48.91-392.38 ng/ μ l) and high RQN value (RNA Quality Number) (7.6-9.6)

KEYWORDS: RNA extraction; blue mussel (*Mytilus edulis*); RQNs; 28S:18S; RNA concentration

PENDAHULUAN

Ekstraksi RNA merupakan salah satu langkah awal dalam penelitian bidang biologi molekular. Tahapan ini sangat penting dilakukan karena keberhasilan ekstraksi RNA akan menghasilkan kualitas dan kuantitas RNA yang baik sehingga tahapan molekular selanjutnya dapat dilakukan. Ekstraksi RNA umumnya digunakan pada penelitian ekspresi gen seperti menggunakan metode *quantitative real time* PCR (RT-qPCR), analisa *Northren blot*, analisa transkriptomik dengan menggunakan alat *Next Generation Sequencing* (NGS) dan analisa ekspresi gen lainnya (Fleige *et al.*, 2006, Schroeder *et al.*, 2006, Kiewi *et al.*, 2009, Gayral *et al.*, 2011, Pereira *et al.*, 2017). Analisa transkriptomik dapat digunakan untuk mengetahui hasil ekspresi gen dari organisme yang diteliti sehingga profil atau karakteristik gen pada organisme dapat diketahui secara menyeluruh.

Pada umumnya, ekstraksi RNA dengan metode konvensional menghasilkan kuantitas RNA yang banyak, namun dengan tingkat kontaminasi DNA yang tinggi dan waktu pengerjaan yang lama. Sementara itu, metode kit komersial menghasilkan kuantitas RNA yang cukup dengan kualitas yang baik dengan waktu singkat sehingga ekstraksi RNA dengan metode kit komersial lebih sering digunakan oleh para peneliti (Habib *et al.*, 2014). Metode ini berbasis pada fenol/kloroform dan spin kolom. Penggunaan fenol/klorom menghasilkan kuantitas RNA yang lebih banyak dibandingkan spin column, namun penggunaan spin column menghasilkan kualitas RNA yang lebih baik (Tesena *et al.*, 2017). Kuantitas RNA dapat dinilai dengan melihat konsentrasi total RNA yang diperoleh. Total RNA terdiri dari mRNA (messenger RNA), tRNA (transfer RNA) dan rRNA (ribosomal RNA) dan 80% nya terdiri dari rRNA. Mayoritas rRNA terdiri dari

¹ rRNA 25S dan 18S. rRNA-25S bersifat lebih labil dan mudah terdegradasi dibandingkan rRNA-18S. Apabila jumlah basa nukleotida 25S menurun karena terjadi degradasi, maka rasio 25S:18S akan menurun pula. Sehingga kualitas RNA dapat dinilai dengan melihat rasio 25S:18S, semakin rendah rasio 25S:18S semakin rendah kualitas RNA (Zulaeha *et al.*, 2019). ¹ Tingkat kontaminasi sampel dapat dinilai dengan melihat rasio absorbansi sampel pada panjang gelombang A260:A280, pada A260 menunjukkan kontaminasi asam nukleat dan A280 kontaminasi protein serta kontaminan lain. Rasio ¹ RNA $\geq 1,8$ dinilai baik dan dapat dilanjutkan untuk tahapan sekuensing (Becker *et al.*, 2010).

⁵ Indonesia merupakan negara dengan tingkat biodiversitas flora dan fauna yang tinggi, namun penelitian transkriptomik di Indonesia belum banyak dilakukan. Zulaeha *et al.* (2019) melakukan uji ekstraksi RNA pada tanaman kelapa sawit dan menunjukkan kit RibospinTM (Geneall) menghasilkan kualitas RNA yang baik. Adiputra *et al.* (2012) merekomendasikan metode Wylie dan Randes dalam preparasi RNA dari benih tanaman caisin. Sebagai negara dengan biodiversitas laut yang tinggi memerlukan kajian genomic, misal transkriptomik, ekspresi gen pada biota laut belum banyak dilakukan.

Kerang biru (*Mytilus edulis*) merupakan salah satu biota laut yang dapat dikonsumsi oleh manusia (bahan pangan). ⁷ Biota ini memiliki kandungan gizi yang tinggi seperti vitamin B12, selenium (Se) mangan (Mn), Zink (Zn) dan zat besi (Fe). Budidaya kerang biru meningkat tiap tahunnya dikarenakan permintaan yang terus meningkat secara global (FAO, 2018). Budidaya kerang biru umumnya dilakukan di sekitar pantai menggunakan rakit, tiang pancang, dan sistem rawai (Hickman, 1992). Namun budidaya kerang ini terkendala karena perubahan iklim, perubahan

lingkungan yang berfluktuasi hingga pencemaran lingkungan. Beberapa penelitian menunjukkan kemampuan adaptif kerang yang tinggi terkait dengan fitur metabolik dan genetik spesifik yang memberikan ketahanan yang lebih baik terhadap kondisi stres dan kerentanan yang lebih rendah terhadap kematian pada musim panas (Guillou *et al.*, 2020).

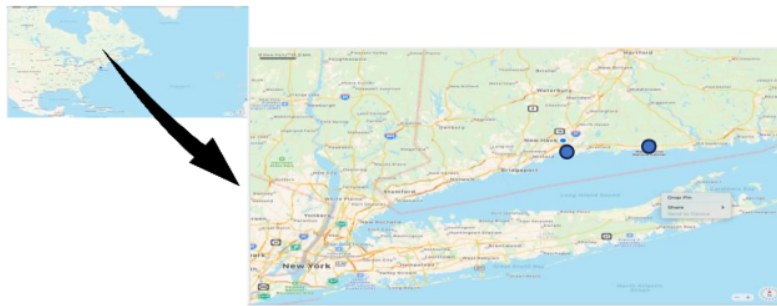
Sebagai salah satu moluska yang dapat hidup diberbagai wilayah perairan dunia (komersial), kerang biru diketahui hidup disepanjang samudera Indo pasifik, hingga Atlantik. Sifatnya yang filter feeder, benthic (hidup didasar subtract), menjadikan hewan ini sering digunakan sebagai sentinel spesies dalam mengetahui status pencemaran suatu perairan (Simbolon, 2018, Walker, 2013). Kemampuan moluska dalam bertahan hidup diberbagai kondisi lingkungan bahkan didaerah dengan tekanan tinggi masih belum jelas hingga saat ini (Zhang H *et al.*, 2022). Kualitas dan kuanititas ¹ RNA yang baik merupakan tahapan awal yang penting sehingga analisa genomic lebih lanjut dapat dilakukan untuk mengungkap fenomena kejadian ketahanan moluska dapat hidup di daerah dengan cekaman lingkungan yang tinggi.

Diskusi mengenai metode yang tepat dalam mengekstraksi asam nukleat termasuk RNA pada moluska masih menjadi permasalahan yang hingga kini tetap terus diteliti (Adema, 2020). ³ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode yang tepat dalam ekstraksi RNA pada mantel kerang biru (*Mytilus edulis*). Prosedur ekstraksi RNA yang tepat dapat menghasilkan kualitas dan kuantitas RNA yang baik, sehingga tahapan lanjut dari analisa genomic dapat dilakukan dengan baik.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sample

Kerang biru (*Mytilus edulis*) dikoleksi dari perairan Long Island Sound, New Haven, Connecticut USA (Gambar 1). Sebanyak 4 individu kerang biru masing-masing-dikoleksi dari 2 lokasi yaitu Meigs Point (41°14' 57" N 72°32' 34" W) dan Lighthouse Point (41°14' 48" N 72°53' 60" W). Kerang biru dikoleksi pada saat pantai dalam keadaan surut di pagi hari (09.00am), sehingga langsung mengambilnya pada celah batu dan bersembunyi pada rumput laut. Kerang biru dimasukkan dalam *coolbox* berisi air laut bersih dengan suhu 4°C, kemudian segera dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pembedahan pada bagian mantle. Prosedur pembedahan dilakukan secara aseptik, ± 100 mg jaringan mantle kerang biru di masukan kedalam microtube 2ml dan di masukan ke freezer -80 °C untuk dilakukan ekstraksi RNA.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan sampel kerang biru di Perairan Long Island Sound, New Haven, Connecticut, Amerika Serikat
Figure 1. Sampling location for blue mussels in Long Island Sound, New Haven, Connecticut, United States

Delapan kerang biru (MST1a, MST1b, MST1c, MST1d, MST2a, MST2b, MST2c, MST2d) yang diperoleh selama penelitian, dibersihkan dengan air

terdestilasi dan dilakukan pengukuran panjang dan diameter cangkang seperti disajikan pada Gambar 2. Kerang biru kemudian dibuka cangkangnya dan dilakukan pembedahan secara aseptis untuk pengambilan jaringan mantel seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Sampel MST1a, MST1b, MST2a dan MST2b digunakan untuk ekstraksi RNA menggunakan metode RNAqueos kit, sementara itu sampel MST1c, MST1d, MST2c, dan MST2d digunakan untuk ekstraksi RNA menggunakan metode kit TRIzolTM Reagent.



Gambar 2. Pengukuran panjang dan diameter cangkang kerang biru yang diperoleh saat penelitian

Figure 2. Measurement of the length and diameter of blue mussel shells obtained during research



Gambar 3. Anatomi bagian dalam kerang biru untuk dilakukan pembedahan pada jaringan mantel

Figure 3. Inside anatomy of blue mussels for dissection in the mantle tissue

Ekstraksi RNA

Metode ekstraksi RNA pertama menggunakan RNAqueous Phenol-free total RNA Isolation (Invitrogen Thermo Fisher Scientific Cat. No. AM1931). Prosedur ekstraksi RNA kedua menggunakan TRIzol™ Reagent (Invitrogen Cat.No.15596026). Ekstraksi RNA dilakukan pada 4 sampel jaringan mantel kerang biru sesuai dengan masing masing prosedur dan dibandingkan hasilnya. Tiap tahapan prosedur disampaikan pada Grafik 1. Tahapan utama ekstraksi RNA antara lain: Proses lisis jaringan untuk isolasi RNA (RNA lysis), pengikatan pada filter (*Filter binding*), pencucian (*washing*) dan Elusi RNA (RNA elution). Tahapan dari ekstraksi RNA yang dilakukan antara lain:

Isolasi Total RNA dengan Kit RNAqueous Phenol-free

Metode ekstraksi RNA pertama menggunakan RNAqueous Phenol-free total RNA Isolation dengan Catalog Number. AM1931). Secara singkat prosedur ini menghomogenkan ± 100 mg sampel mantel kerang biru dengan larutan Lysis, diikuti langkah sentrifugasi untuk memisahkan sisa serpihan mantel dan supernatant. Supernatant dimasukan dalam spin column dan dicampur ethanol 64% kemudian di sentrifugasi kembali. Larutan dicuci dengan dua kali dengan *washing solution* dan diakhiri dengan pemberian 40 μ l elution solution dan disentrifugasi 1500 rpm selama 3 menit.

Isolasi Total RNA dengan Kit TRIzol™ Reagent

Metode ekstraksi RNA kedua menggunakan TRIzol™ Reagent Invitrogen dengan Catalog Number 15596026). Kit ini berbasis penggunaan khloroform sehingga ekstraksi RNA harus dilakukan pada *fume hood*. Proses lysis dilakukan dengan menghomogenkan 100mg sampel mantel kerang biru pada 1 ml TRIzol™ Reagent

dan khloroform. Sampel diinkubasi selama 2-3 menit dan disentrifuge, hasil sentrifuge akan memisahkan 2 bagian cairan *interphase* (bagian bawah) dan cairan bening (bagian atas). Bagian atas dipindahkan ke microtube kemudian dimasukan 500µl isopropanol dan diinkubasi selama 10 menit serta disentrifugasi pada 12000rpm selama 10 menit. RNA hasil presipitasi terlihat seperti pellet berwarna putih di bagian bawah tube. Pellet RNA di masukan RNase-free water 50µl dan dihomogenkan dengan teknik *pipetting*.

Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan analisa berupa data deskriptif dan kuantitatif antara lain gambar gel elektroforesis, electhogram, nilai RQN, dan total konsentrasi RNA serta rasio 28S:18S dalam membandingkan prosedur yang berbeda dalam proses ekstraksi total RNA. RNA yang telah berhasil diekstraksi dilakukan analisi kualitas dan kuantitas RNA secara menyeluruh dengan menggunakan Agilent 5300 Fragment Analyzer.

HASIL DAN BAHASAN

Kerang biru (*Mytilus edulis*) merupakan kelompok moluska dari kelas Bivalvia, hewan ini memiliki kemampuan adaptasi baik bahkan di lingkungan dengan tekanan yang tinggi. Kemampuannya dalam bertahan hidup di pengaruhi kondisi fisiologis dan perkembangan reproduksi yang berkorelasi pada fungsi genetic dan faktor lingkungan (Seed, 1976). Mantel merupakan bagian anatomi dengan system organ yang kompleks, organ ini terdiri dari jaringan ikat, komponen syaraf dan kelenjar yang sebagian besar terhubung dengan sekresi cangkang dan reproduksi (Anantharaman & Craft, 2012; Yarra *et al.*, 2016). Pendekatan genomic seperti transkriptomik telah digunakan untuk mengetahui proses fisiologi Bivalvia

seperti karakteristik gen yang terlibat dalam proses adaptasi dan respon Bivalvia terhadap kondisi lingkungan yang sangat bervariasi (Lesser & Macmanes, 2016). Kualitas dan kuantitas RNA yang baik menjadi kunci dalam analisa genomic lebih lanjut, misal transkriptomik, ekspresi gen, dsb.

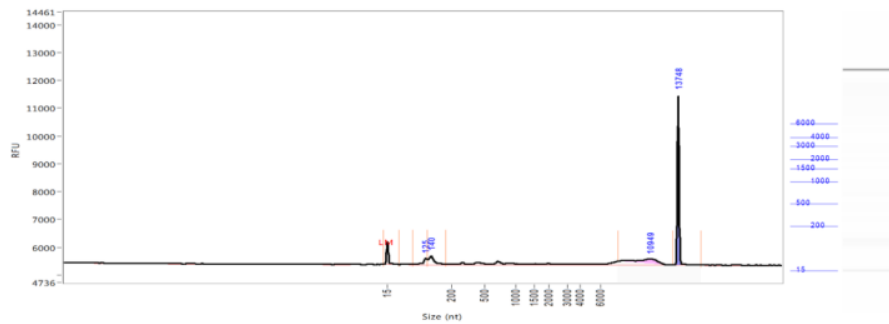
Metode ekstraksi RNA pertama menggunakan metode RNAqueos kit tidak dapat dilakukan hingga akhir. Pada proses *filter binding* (pengikatan pada filter spin column) terjadi penyumbatan pada *filter cardridge* (Gambar 4). Setelah dilakukan sentrifugasi ulang pada kecepatan 15000rpm selama 3 menit, penyumbatan tetap terjadi, sehingga prosedur selanjutnya tidak dapat dilakukan. Penggunaan Kit RNAqueous Phenol-free dalam mengekstraksi RNA pada kerang biru tidak dapat dilanjutkan dikarenakan terjadi penyumbatan (*clogged*) pada tahapan *filter binding*. Penyumbatan pada proses ekstraksi RNA dapat terjadi karena proses homogenasi yang kurang baik. Penggunaan strategi homegenisasi yang terintegrasi seperti peningkatan suhu inkubasi dan penggunaan *rotor-stator* dalam penggilingan jaringan dalam nitrogen cair pada tahapan awal terbukti memaksimalkan konsentrasi RNA (Kemfack *et al.*, 2022). Penggunaan RNAeasy kit pada jaringan otot tikus menghasilkan ekstrak RNA yang tidak konsisten dan jarang memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut (Kemfack *et al.*, 2022). Metode ekstraksi RNA yang tepat menjadi langkah awal dalam menghasilkan kualitas RNA yang berkualitas baik. Sementara itu, metode ekstraksi RNA dengan Kit TRIzol™ Reagent dapat dilakukan dengan baik, hasil ekstraksi RNA dianalisa dengan Agilent 5300 Fragment Analyzer untuk menganalisa kualitas dan kuantitas RNA



Gambar 4. Penyumbatan (*clogged*) hasil dari proses *filter binding* pada spin column dengan kit RNAqueous Phenol-free

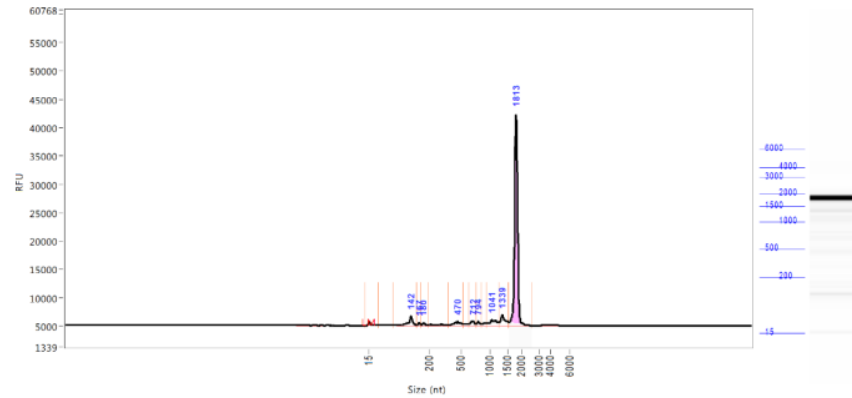
Figure 4. Clogged results from the filter binding process on the spin column with the RNAqueous Phenol-free kit

Hasil yang diperoleh berupa gambar gel elektroforesis, electhogram, nilai RQN(RNA *Quality Number*) dan total konsentrasi RNA serta rasio 28S:18S. Nilai RQN setara dengan nilai RIN (RNA Integrity Number). Nilai RQN muncul jika menganalisis kualitas RNA dengan menggunakan Fragment Analyzer. RQN dihitung dengan menganalisis seluruh electropherogram selain rasio puncak ribosom. Nilai RQN didasarkan pada skala 1 sampai 10, dengan 1 mewakili RNA terdegradasi dan 10 mewakili RNA yang utuh. Dari ke empat sampel, 1 sampel RNA dinyatakan tidak layak untuk dilakukan analisa transkriptomik dikarenakan tingginya kontaminasi DNA. Gambaran electhogram dan elektroforesis pada tiap sampel dapat terlihat pada Gambar 5 hingga Gambar 8. Konsentrasi total RNA, rasio 28S:18S serta nilai RQN pada setiap sampel disajikan pada Tabel 1.



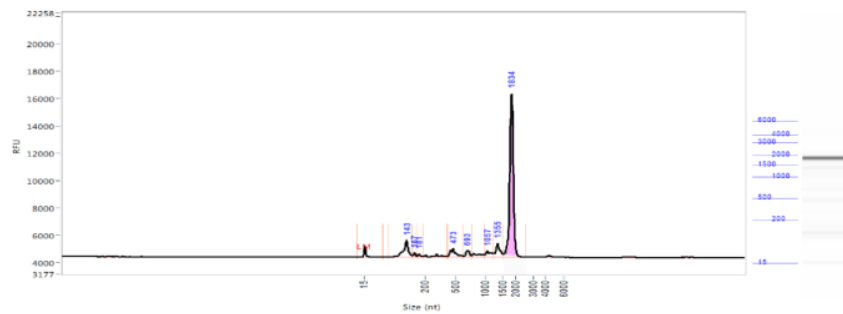
Gambar 5. Electhrogram dan gel elektroforesis yang dihasilkan pada pemeriksaan kualitas RNA pada Sampel MST1c

Figure 5. The Electhrogram and electrophoresis gels produced during RNA quality checks on MST1c sample



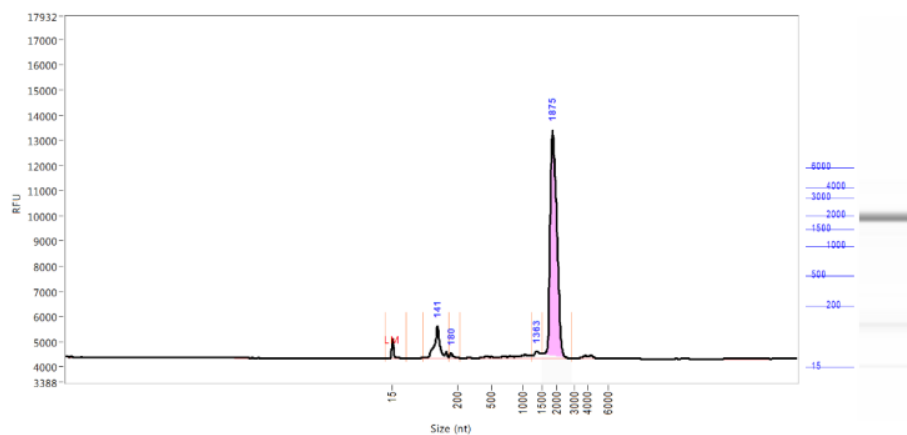
Gambar 6. Electhrogram dan gel elektroforesis yang dihasilkan pada pemeriksaan kualitas RNA pada Sampel MST1d

Figure 6. Electhrogram and electrophoresis gel produced during RNA quality checks on MST1d samples



Gambar 7. Electhrogram dan gel elektroforesis yang dihasilkan pada pemeriksaan kualitas RNA pada Sampel MST2c

Figure 7. Electhrogram and gel electrophoresis resulting from checking RNA quality in MST2c samples



Gambar 8. Electrogram dan gel elektroforesis yang dihasilkan pada pemeriksaan kualitas RNA pada Sampel MST2d

Figure 8. Electrogram and electrophoresis gel resulting from checking RNA quality in MST2d samples

Pada Gambar 5, hasil elektroforesis sampel MST1c tidak menunjukkan adanya band pada gen target yaitu berkisar antara 1500-2000bp. Ketidakhadiran band baik 28S maupun 18S pada elektroforesis menunjukkan tidak adanya ribosomal RNA (rRNA) yang diperoleh, hal yang sama terlihat pada gambaran electrogram menampilkan sampel ini tidak menunjukkan *peak* rRNA (ribosomal RNA) dan hanya menunjukkan miRNA serta fragment yang besar dengan ukuran lebih dari 6000nt, fragmen ini terbentuk kemungkinan dikarenakan terjadinya kontaminasi DNA pada sampel. Pada gambar 6-8, terlihat munculnya band pada gambaran elektroforesis, namun yang terlihat hanya band 18S yang menunjukkan adanya rRNA terdapat pada sampel. Hal ini juga terlihat pada masing-masing electrogram dimana *peak* rRNA 18S terlihat pada ukuran 1500-2000 nt.

Salah satu penilaian tingginya kualitas dan kuantitas ekstrak RNA dapat diketahui dengan munculnya band 28S dan 18S pada gel elektroforesis, dimana band 28S terlihat dibagian atas dan lebih menonjol dibandingkan 18S (Schroeder

et al., 2006). Becker et al. (2010) menyebutkan kualitas RNA yang baik apabila nilai rasio 28S dan 18S berkisar 2.0. Penelitian ini menunjukkan tidak munculnya band 28S pada gambaran di gel elektroforesis maupun di electrogram pada sampel MST1d, MST2c dan MST2d, sehingga rasion 28S: 18S bernilai 0. Hal ini terjadi dikarenakan sifat sensitivitas 28S rRNA yang mudah terfragmentasi dengan adanya pemanasan dan faktor denaturasi. Tan & Conaco (2021) menyebutkan, hilangnya *band* dan *peak* pada 28S rRNA umumnya terjadi pada RNA moluska, hal yang sama juga dilaporkan terjadi pada RNA serangga (Winnebeck *et al.*, 2010). Hilangnya band 28S rRNA disebabkan terjadinya fragmentasi 28S rRNA dengan 2 ukuran yang sama menjadi 28S α dan 28S β . Pada electrogram sampel MST1d, MST2c dan MST2d terlihat tingginya peak pada 18S. Meningkatnya intensitas band 18S rRNA dihasilkan sebagai kombinasi dari 18S rRNA, 28S α rRNA dan 28S β rRNA. Tidak adanya *smear* pada daerah disekitar 18S rRNA dan adanya penanda berat molekul yang rendah menandakan kualitas RNA yang baik dengan degradasi yang rendah (Tan & Conaco, 2021).

Konsentrasi RNA total, rasio 28S:18S serta nilai RQN pada masing-masing sampel disajikan pada Tabel 1. Seperti terlihat pada Tabel 1 konsentrasi total RNA yang diperoleh berkisar 48.91-392.38 ng/ μ l, nilai rasio 28S:18S berkisar 0-3.5 dimana sampel MST1c memiliki nilai rasio 28S:18S tertinggi yaitu 3.5. Nilai RQN sampel yang diteliti berkisar 7.6-9.6 dengan nilai RQN tertinggi terdapat pada sampel MST2d.

Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi total RNA, rasio 28S:18S dan nilai RQN dari masing-masing sampel

Table 1. Results of measuring total RNA concentration, 28S:18S ratio and RQN value of each sample

Nama Sampel	Konsentrasi total RNA 28S/18S RQN (ng/μl)
MST1c	48.9132 3.5 8.2
MST1d	392.3865 0.0 8.4
MST2c	163.0580 0.0 7.6
MST2d	173.4407 0.0 9.6

Nilai RQN pada seluruh sampel berkisar antara 7.6 – 9.6, dengan nilai RQN tertinggi pada sampel MTS2d. Secara umum nilai RQN seluruh sampel sudah baik. Nilai RQN (*RNA quality number*) menunjukkan metrik kualitas dari total RNA pada sampel. Nilai RQN dinilai ¹ dari 1 hingga 10, dimana angka 1 menunjukkan total RNA yang terdegradasi sempurna sementara itu nilai RQN 10 menunjukkan total RNA yang utuh. Nilai RQN yang tinggi mengindikasikan kualitas RNA yang tinggi dengan degradasi minimal pada sampel (Pocernich & Steve, 2019). Nilai RQN setara dengan nilai RIN (*RNA integrity number*) pada Bioanalyzer (Wong *et al.*, 2013).

Total konsentrasi RNA berkisar antara 48.91-392.38 ng/μl), dengan konsentrasi RNA terendah pada sampel MTS1c. ¹ RNA yang baik memiliki konsentrasi minimal 5-500 ng·μL⁻¹ (Aranda *et al.* 2009). Namun umumnya konsentrasi RNA minimum yaitu ¹ 100 ng/μL yang dibutuhkan untuk analisis lebih lanjut (Zulaeha *et al.*, 2019). Sehingga dari keempat sampel MTS1c tidak memenuhi untuk tahapan analisa lanjutan.

Total konsentrasi RNA, nilai RQN dan rasio ribosomal 28S:18S menjadi syarat dalam menilai dan mengevaluasi kualitas total RNA (Pocernich & Steve, 2019). Nilai RQN dan rasio 28S:18S mengukur aspek kualitas yang berbeda, namun saling melengkapi. Nilai RQN mengukur aspek *purity* (kemurnian) dari kontaminan dan yang kedua mengukur integritas (keutuhan). Tabel 1 menunjukkan bahwa aspek kemurnian dan keutuhan tidak selalu sejalan. Integritas RNA (ditunjukkan dengan nilai RQN) cukup baik, sementara rasio 28S:18S yang rendah. Kondisi ideal yang diharapkan adalah mendapatkan ekstrak RNA dengan kemurnian yang tinggi (diindikasikan dengan nilai ratio 28S/18S sekitar 2,0 dan RQN mendekati 10). Namun pada beberapa spesies seperti moluska, rasio 28S : 18S dapat bernilai 0 dikarenakan tidak munculnya peak 28S dikarenakan sifatnya yang mudah terfragmentasi karena pemanasan dan denaturasi (Tan & Connaco, 2021). Sehingga indikator nilai RQN dan rasio 28S:18S tidak selalu sejalan contohnya pada moluska. Total konsentrasi RNA pada MST1d, MST2c dan MST2d ≥ 100 ng/ μ L, sehingga meskipun dengan rasio 28S:18S bernilai 0 ketiga sampel tersebut menunjukkan kualitas total RNA yang baik untuk dilanjutkan ketahapan analisa genomik selanjutnya.

KESIMPULAN

Kualitas dan kuantitas RNA merupakan tahapan awal dan langkah penting dalam analisa genomik lanjutan. Penggunaan metode ekstraksi RNA dengan Kit TRIzol™ Reagent terbukti dapat menghasilkan kualitas dan kuantitas RNA yang baik dan diindikasikan dari konsentrasi total RNA dan nilai RQN.

PERSANTUNAN

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. Udhi Eko Hernawan selaku kepala Pusat Riset Oseanografi (PRO-BRIN) yang telah mengijinkan penulis untuk mengikuti kunjungan riset di Yale University. Terimakasih kepada Dr Hagi Yulia Sugeha selaku kordinator kolaborasi riset antara PRO-BRIN dengan Yale University. Terimakasih juga disampaikan kepada Prof Casey Dunn selaku Professor and Curator Yale Peabody Museum, Yale University yang telah memberikan kesempatan penulis dalam melakukan kunjungan riset di Yale University. Terimakasih kepada Dr. Samuel Church yang telah memberikan pendampingan selama kunjungan riset berlangsung. Penelitian ini dibiayai oleh Yale Institute for Biospheric Studies (YIBS) dibawah kerjasama PRO-BRIN dan Yale University.

Anna Rejeki Simbolon

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	ejurnal.bppt.go.id Internet	129 words — 4%
2	d-amik.blogspot.com Internet	13 words — < 1%
3	123dok.com Internet	10 words — < 1%
4	multisite.itb.ac.id Internet	9 words — < 1%
5	Sarah Sarah. "Hegemoni Melalui Regulasi Virus Sharing Internasional: Studi Kasus Virus Flu Burung A (H5N1) Indonesia", Jurnal Penelitian Hukum De Jure, 2019 Crossref	8 words — < 1%
6	app.trdizin.gov.tr Internet	8 words — < 1%
7	minyakarganmadre.com Internet	8 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES OFF

EXCLUDE MATCHES OFF

