

ABSTRAK

Pneumonia adalah penyakit infeksi paruh akut yang disebabkan oleh bakteri salah satunya yaitu *Klebsiella pneumonia*, penyakit pneumonia di Indonesia menjadi penyebab nomor 2 kematian pada balita, maka diperlukan identifikasi secara molekuler pada agen patogen tersebut. Analisis secara molekuler memerlukan bahan utama berupa DNA yang didapatkan melalui isolasi DNA. Penggunaan metode isolasi berbasis kit membutuhkan biaya yang mahal, maka terdapat metode secara konvensional yang efisien yaitu *Heat Treatment*, namun metode ini perlu pengembangan karena nilai kemurniannya kurang baik. Tujuan dari penelitian ini melakukan modifikasi metode *Heat Treatment* melalui penambahan amonium asetat dengan konsentrasi 2,5M; 5M; 7,5M untuk memperoleh nilai kualitas dan kuantitas yang baik terhadap DNA *Klebsiella pneumonia*. Metode yang digunakan adalah eksperimental. Sampel yang digunakan adalah isolat *Klebsiella pneumonia* ATCC BAA 1706 pada media LB sebanyak 24 isolat, dibagi 4 kelompok yaitu kontrol (*Heat Treatment*), M1 (modifikasi 1), M2 (modifikasi 2), M3 (modifikasi 3) dengan pengulangan sebanyak 6 kali. Analisis data menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis*. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai rata-rata konsentrasi pada metode *heat treatment* 471,5 ng/μl ±19,036, sedangkan pada metode modifikasi didapatkan rentang 194,1-205,6 ng/μl, sedangkan nilai kemurnian didapat rata-rata 2,09 pada metode *Heat Treatment*, sedangkan pada metode modifikasi rata-rata 2,57-2,59. Hasil visualisasi DNA terlihat pita pada metode *Heat Treatment*, sedangkan pada metode modifikasi tidak terlihat pita. Pada uji *Kruskal wallis* didapatkan nilai *P value* < 0,05, artinya terdapat pengaruh secara signifikan metode modifikasi terhadap kualitas dan kuantitas DNA. Kesimpulan dari penelitian ini adalah metode modifikasi memberikan nilai kualitas yang kurang baik yang terdapat kontaminan RNA.

Kata Kunci : Isolasi DNA, *heat treatment*, konsentrasi dan kemurnian DNA

ABSTRACT

Pneumonia is acute infectious disease caused by bacteria, one of which is Klebsiella pneumoniae. In Indonesia, pneumonia is the second leading cause of death among toddlers. Therefore, molecular identification of the pathogen is necessary. Molecular analysis requires DNA as the main material obtained through DNA isolation. Kit-based isolation methods are costly, hence a conventional and efficient method such as heat treatment is utilized. However, this method requires development due to its lower purity. The aim of this study was to modify the heat treatment method by adding ammonium acetate at concentrations of 2.5M, 5M, and 7.5M to improve the quality and quantity of Klebsiella pneumoniae DNA. The research employed an experimental approach using 24 isolates of Klebsiella pneumoniae ATCC BAA 1706 on LB media, divided into four groups: control (Heat treatment), M1 (modification 1), M2 (modification 2), and M3 (modification 3), with six repetitions each. Data analysis was conducted using the Kruskal-Wallis test. The study found that the average concentration of DNA using the heat treatment method was $471.5 \text{ ng}/\mu\text{l} \pm 19.036$, whereas with the modified methods, it ranged from 194.1 to 205.6 $\text{ng}/\mu\text{l}$. The purity values averaged 2.09 for the heat treatment method and 2.57-2.59 for the modified methods. Visual examination showed DNA bands in the heat treatment method, whereas no bands were visible in the modified methods. The Kruskal-Wallis test yielded a P value < 0.05 , indicating a significant effect of the modified methods on the quality and quantity of DNA. conclusion the modified methods provided lower quality DNA with RNA contamination.

Keywords: DNA isolation, heat treatment, DNA concentration and purity