

Perbandingan Konsentrasi RNA SARS CoV-2 dari Hasil Ekstraksi Menggunakan Metode *Spin Column* Manual dan *Magnetic Beads* Otomatis

Puji Lestari¹, Nisa Kamilia Elsandra², Eva Ayu Maharani¹, Dewi Astuti¹, Burhannudin¹

¹) Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta III

²) PT Genomik Solidaritas Indonesia (GSI Lab)

Email corresponding author: pujibiotech@gmail.com

ABSTRACT

Recently, Covid-19 cases have declined, however the demand for Covid-19 testing still remained in small numbers. Many SARS CoV-2 RNA extraction methods have been developed, ranging from manual to automation. Automated methods are faster and more efficient due to its high capacity in sample and time, but the operational cost of the equipment is quite expensive. The small number of screening requests makes the automation method inefficient in terms of cost, so it is necessary to pursue alternative efforts using the manual method. Differences in extraction methods can affect RNA concentration, so choosing the right RNA extraction method is important in order to obtain an accurate diagnosis. This study aims to compare the SARS CoV-2 RNA concentration from extraction results using manual spin column and automatic magnetic beads methods. This type of research is an unpaired numerical analytical conducted at GSI Lab from April to June 2024. This study used 30 positive samples of Covid-19 which were extracted by manual spin column method and automatic magnetic beads. The results of this study were tested with Mann Whitney. The RNA concentrations in the manual spin column and automatic magnetic beads extraction methods were 3.9 (1.68 - 36.17) ng/ μ L and 7.96 (2.28 - 113.59) ng/ μ L, respectively. The Mann Whitney test result was 0.00 (p value <0.05), which means there is a significant difference between the results of RNA extraction with the manual spin column extraction method and the automatic magnetic beads extraction method. However, it is recommended that the result be confirmed by real-time PCR.

Keywords : magnetic beads, automatic, spin column, manual, SARS-CoV-2 RNA

ABSTRAK

Kasus Covid-19 telah menurun, namun tetap ada permintaan pemeriksaan Covid-19 dalam jumlah kecil. Metode ekstraksi RNA SARS CoV-2 telah banyak dikembangkan, mulai dari yang bersifat manual hingga otomatisasi. Metode otomatisasi lebih cepat dan efisien karena dapat melakukan ekstraksi banyak sampel per sekali pemeriksaan, namun biaya operasional alat cukup mahal. Jumlah permintaan pemeriksaan yang tidak banyak menyebabkan metode otomatisasi ini tidak efisien dalam hal biaya, sehingga perlu ditempuh usaha alternatif menggunakan metode manual. Perbedaan metode ekstraksi dapat memengaruhi konsentrasi RNA, sehingga pemilihan metode ekstraksi RNA yang



tepat menjadi penting supaya didapatkan diagnosis yang akurat. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan konsentrasi RNA SARS CoV-2 dari hasil ekstraksi menggunakan metode *spin column* manual dan *magnetic beads* otomatis. Jenis penelitian ini adalah analitis numerik tidak berpasangan yang dilaksanakan di GSI Lab pada bulan April sampai Juni 2024. Penelitian ini menggunakan 30 sampel positif Covid-19 yang dilakukan ekstraksi dengan metode *spin column* manual dan *magnetic beads* otomatis. Hasil penelitian ini diuji dengan *Mann Whitney*. Konsentrasi RNA pada metode ekstraksi *spin column* manual dan *magnetic beads* otomatis berturut-turut adalah 3,9 (1,68 – 36,17) ng/ μ L dan 7,96 (2,28 – 113,59) ng/ μ L. Hasil uji *Mann Whitney* adalah 0,00 (nilai $p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil ekstraksi RNA dengan metode *spin column* manual dan *magnetic beads* otomatis. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak mengkonfirmasi hasilnya dengan *real time* PCR.

Kata kunci : *Magnetic Beads*, Otomatis, *Spin Column*, Manual, RNA SARS CoV-2

PENDAHULUAN

Pandemi Covid-19 yang terjadi pada rentang tahun 2020 hingga 2022 telah menelan banyak korban jiwa. Bahkan ada pendapat yang menyatakan bahwa jumlah kematian akibat Covid-19 yang dilaporkan di Indonesia lebih sedikit dari kondisi yang sebenarnya (Collaborators, 2022). Penanganan Covid-19 salah satunya dilakukan dengan pelacakan kontak (*contact tracing*) dan pemeriksaan secara masif.

Pelacakan kontak dilakukan untuk mengendalikan penyebaran penyakit menular di masyarakat (Hossain et al., 2022), sedangkan pemeriksaan digunakan untuk penegakan diagnosis. Awalnya penegakan diagnosis dilakukan melalui tes cepat serologis dengan target antibodi IgM dan IgG,

serta antigen SARS CoV-2 (Pusparini, 2020). Namun selanjutnya berkembang tes berbasis molekuler, *real time* PCR.

Pemeriksaan menggunakan metode *real time* PCR menjadi standar baku emas dalam penegakan diagnosis Covid-19 (Artika et al., 2022). Tingginya jumlah kasus Covid-19 menyebabkan banyaknya jumlah permintaan pemeriksaan menggunakan *real time* PCR. Namun, pengujian dengan metode ini membutuhkan waktu yang cukup lama, sehingga beberapa layanan kesehatan menggunakan alat ekstraksi RNA otomatis. Ekstraksi RNA otomatis mampu memproses sampel dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat (Klein et al., 2020), namun biayanya cukup mahal jika dibandingkan dengan metode manual, sehingga tidak cocok

untuk laboratorium dengan jumlah sampel sedikit (Dhibika et al., 2023).

Seiring dengan penurunan jumlah kasus baru Covid-19, tanggal 5 Mei 2023 WHO telah mencabut status *Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC) (Torner, 2023). Hal ini berdampak pada penurunan permintaan pemeriksaan Covid-19, sehingga penggunaan alat ekstraksi RNA otomatis menjadi tidak efektif.

Metode ekstraksi RNA manual dapat menjadi alternatif pilihan. Meskipun, metode manual melelahkan, memerlukan lebih banyak waktu, berisiko terjadi kontaminasi silang, serta kemungkinan terjadi kesalahan teknis (Dave & Roat, 2024), namun biaya yang diperlukan relatif lebih rendah atau lebih ekonomis dibandingkan dengan metode otomatis. Terutama jika jumlah sampel sedikit atau pemeriksaan skala kecil (Dhibika et al., 2023).

Perbedaan metode ekstraksi dapat berpengaruh terhadap konsentrasi RNA yang dihasilkan (Ambrosi et al., 2021; Jeffries et al., 2014). Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan konsentrasi RNA SARS CoV-2 yang dihasilkan dari metode *magnetic beads* otomatis dengan *spin column* manual. Perbedaan konsentrasi RNA mungkin dapat memengaruhi hasil diagnosis.

METODE PENELITIAN / METHODS

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain potong lintang. Sampel yang digunakan berjumlah 30 VTM *inactivated* tersimpan yang sebelumnya telah terkonfirmasi positif Covid-19 berdasarkan hasil pemeriksaan real time PCR. Seluruh sampel diekstraksi RNA-nya menggunakan kedua metode. Metode *magnetic beads* menggunakan alat ekstraksi asam nukleat otomatis merek Vazyme (Lot no. VNP-32P, Nanjing, China) dengan kit ekstraksi VAMNE Virus DNA/RNA Extraction Vazyme Kit 3.0 (Lot No. RM501, Nanjing, China), sedangkan metode *spin column* manual menggunakan kit Quick-RNATM Miniprep Plus Kit (Zymo Research, Lot No. R1057T, Irvine, California). Konsentrasi RNA ditentukan berdasarkan hasil pengukuran pada alat *Implen Nano Photometer* dengan satuan ng/μl. Analisis numerik tidak berpasangan dilakukan untuk mengetahui perbedaan konsentrasi RNA dari kedua metode dengan SPSS 17 dengan uji Mann Whitney. Penelitian ini telah mendapatkan ijin etik nomor KEPK/UMP/279/III/2024 dari Komisi Etik Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Penelitian dilaksanakan pada April-Juni 2024 di Laboratorium Genomik Solidaritas Indonesia (GSI Lab).

HASIL PENELITIAN

Hasil analisis univariat pada kedua data konsentrasi RNA adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Analisis deskriptif konsentrasi RNA dari kedua metode

	Metode	n	Med	Min	Max
Kons. RNA (ng/μl)	<i>Magnetic beads</i> otomatis	30	7,96	2,28	113,59
	<i>Spin column</i> manual	30	3,9	1,68	36,17

Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi RNA dari metode *spin column* manual lebih rendah dibandingkan dengan *magnetic beads* otomatis. Rentang nilai konsentrasi RNA juga cukup jauh, yaitu 2,28-113,59 ng/μl pada *magnetic beads* otomatis dan 1,68-36,17 ng/μl pada *spin column* manual.

Hasil uji normalitas data numerik dengan Shapiro Wilk disajikan pada Tabel 2.

PEMBAHASAN

Perbedaan metode ekstraksi dapat menyebabkan perbedaan konsentrasi RNA (Ambrosi et al., 2021; Jeffries et al., 2014). Tabel 1 memperlihatkan konsentrasi RNA

Tabel 2. Hasil uji normalitas data konsentrasi RNA dari kedua metode

Variabel	Nilai P	n
Konsentrasi RNA dari metode ekstraksi <i>magnetic beads</i> otomatis	0,000	30
Konsentrasi RNA dari metode ekstraksi <i>spin column</i> manual	0,000	30

Tabel 2 menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal, sehingga dilakukan uji beda rata-rata non parametrik Mann Whitney.

Tabel 3. Hasil uji Mann Whitney

Variabel	Median	Nilai P	n
Konsentrasi RNA dari metode ekstraksi <i>magnetic beads</i> otomatis	7,96 (2,28-113,59)	0,000	30
Konsentrasi RNA dari metode ekstraksi <i>spin column</i> manual	3,9 (1,68-36,17)		30

Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi RNA yang diekstraksi dengan metode *magnetic beads* otomatis dan *spin column* manual

SARS CoV-2 yang diekstraksi menggunakan metode *spin column* manual lebih rendah jika dibandingkan dengan metode *magnetic beads* otomatis. Hasil ini sesuai dengan penelitian Dhibika et al., (2023) yang juga menyimpulkan bahwa *yield* RNA dari metode

magnetic beads otomatis lebih tinggi dibandingkan dengan metode *spin column* manual (Dhibika et al., 2023). Konsentrasi RNA yang diekstraksi dengan *spin column* manual lebih rendah karena ada resiko terjadi sumbatan (*clogging*) pada membran silika yang terdapat pada *column* sehingga RNA yang terekstraksi tidak maksimal (Samant et al., 2020).

Analisis bivariat *Mann Whitney* memperoleh nilai $p < 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada hasil konsentrasi RNA dari kedua metode. Ekstraksi RNA dengan metode *magnetic beads* otomatis menghasilkan *yield* dan kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan metode *spin column* manual (Dave & Roat, 2024). Namun, hasil sebaliknya disebutkan dalam hasil penelitian Sahu et al., (2021), bahwa *yield* dan kemurnian RNA dari metode *spin column* manual lebih tinggi (Sahu et al., 2021). Hasil penelitian tersebut memberikan gambaran bahwa baik tidaknya *yield* maupun kemurnian dari RNA akan sangat tergantung dari kit yang digunakan. Penelitian Dave & Roat, (2024) menggunakan instrumen

otomatis *TaqPath™ COVID-19 Combo Kit* (Thermo Fisher Scientific) dan kit manual menggunakan *QIAamp Viral RNA Mini Kit* (Qiagen), sedangkan Sahu et al., (2021) menggunakan instrumen otomatis *MAG Pure Corona Virus (SARS-CoV) Nucleic Acid Purification Kit* (APS LABS) dan kit manual *MAGSPIN-73 PLUS* (APS LABS). Penelitian Joseph et al., (2022) mengevaluasi kit ekstraksi otomatis dan manual, temuan penelitian ini menunjukkan bahwa memang ada perbedaan, baik dalam konsentrasi maupun kemurnian, antar kit ekstraksi RNA yang tersedia secara komersial. Oleh sebab itu, pemilihan metode maupun kit ekstraksi harus diperhitungkan dengan baik, yaitu disesuaikan dengan proses, analisis, atau aplikasi hilir berikutnya (*downstream analysis*).

Sabat et al., (2021) menyebutkan bahwa kualitas RNA (utuh, murni, dan bebas kontaminan) lebih penting dibandingkan konsentrasi (*yield*) (Sabat et al., 2021). Oleh sebab itu, pertimbangan dalam pemilihan metode maupun kit ekstraksi RNA sebaiknya didasarkan atas kemampuannya dalam menghasilkan RNA yang berkualitas. Kualitas RNA ini sangat menentukan keberhasilan aplikasi hilir berikutnya (*downstream analysis*) (Carvalhaisa et al., 2013).



Penelitian Dhibika et al., (2023) membandingkan antara metode ekstraksi RNA SARS CoV-2 secara otomatis dan manual, hasilnya tidak ada variasi dalam interpretasi hasil menggunakan *real time* PCR (tidak ada perbedaan hasil diagnosis) (Dhibika et al., 2023). Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Campos et al., (2021) yang menyatakan bahwa metode *spin column* manual dan *magnetic beads* otomatis dapat digunakan untuk ekstraksi RNA SARS CoV-2 karena dari kedua metode ekstraksi tersebut menghasilkan interpretasi *real time* PCR yang sama (Campos et al., 2021).

Pemilihan metode ekstraksi RNA didasarkan pada kebutuhan dan kondisi. Beberapa reagen ekstraksi dapat memproses sampel dengan cepat dan banyak, namun mahal. Ada juga yang pemrosesan lebih lama dan sedikit, namun lebih murah. Saat kondisi pandemi, jumlah permintaan pemeriksaan sangat banyak, sehingga metode otomatis adalah pilihan yang tepat karena lebih efisien dalam tenaga dan waktu. Namun, saat jumlah permintaan pemeriksaan sedikit, maka metode manual dapat menjadi alternatif solusi karena lebih rendah biaya operasionalnya.

Hasil ekstraksi RNA menggunakan metode *magnetic beads*

otomatis dan *spin column* manual sama-sama dapat digunakan dalam analisis lanjutan menggunakan *real time* PCR (Akutsu et al., 2015). Kelemahan metode *spin column* manual adalah memerlukan tenaga laboratorium yang telah terlatih dalam jumlah yang lebih banyak, waktu pengerjaan lebih lama, dan biasanya menghasilkan RNA dengan konsentrasi tidak konsisten untuk setiap sampel. Di sisi lain, metode *spin column* manual biayanya lebih murah, sedangkan metode *magnetic beads* otomatis membutuhkan biaya 3,5 kali lebih banyak untuk bahan habis pakai (Dhibika et al., 2023).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi RNA SARS CoV-2 antara sampel yang diekstraksi dengan metode *magnetic beads* otomatis dan *spin down* manual. Penggantian metode *magnetic beads* otomatis dengan *spin column* manual mungkin dapat dilakukan dengan mempertimbangkan jumlah sampel dan permintaan pemeriksaan oleh pelanggan.

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah melakukan konfirmasi dengan *real time* PCR pada RNA yang diekstraksi dengan kedua metode tersebut, serta mengukur konsentrasi dan menilai kemurnian RNA hasil ekstraksi.

DAFTAR PUSTAKA / BIBLIOGRAPHY

- Akutsu, T., Kitayama, T., Watanabe, K., & Sakurada, K. (2015). Comparison of automated and manual purification of total RNA for mRNA-based identification of body fluids. *Forensic Science International: Genetics*, 14(2015), 11-17.
- Ambrosi, C., Prezioso, C., Checconi, P., Scribano, D., Sarshar, M., Capannari, M., Tomino, C., Fini, M., Garaci, E., Palamara, A. T., De Chiara, G., & Limongi, D. (2021). SARS-CoV-2: Comparative analysis of different RNA extraction methods. *Journal of Virological Methods*, 287, 114008. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.114008>
- Artika, I. M., Dewi, Y. P., & Antonjaya, U. (2022). Real-Time Polymerase Chain Reaction: Current Techniques, Applications, and Role in COVID-19 Diagnosis. *Genes*, 13, 2378. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/genes13122387>
- Campos, K. R., Sacchi, C. T., Gonçalves, C. R., Pagnoca, É. V. R. G., Dias, A. d. S., Fukasawa, L. O., & Caterino-de-Araujo, A. (2021). COVID-19 laboratory diagnosis: comparative analysis of different RNA extraction methods for SARS-CoV-2 detection by two amplification protocols. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 63, e52. <https://doi.org/http://doi.org/10.1590/S1678-9946202163052>
- Carvalhaisa, V., Delgado-Rastrollo, M., Melo, L. D. R., & Cerca, N. (2013). Controlled RNA contamination and degradation and its impact on qPCR gene expression in *S. epidermidis* biofilms. *Journal of Microbiological Methods*, 95(2013), 195-200.
- Collaborators, C.-E. M. (2022). Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020–21. *Lancet*, 399, 1513-1536. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02796-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02796-3)
- Dave, N. H., & Roat, C. (2024). Evaluation of the time, labor, and money required for manual and automated nucleic acid (RNA) isolation for the detection of SARS-COV-2 by QRT-PCR using the qiamp viral RNA mini kit and kingfisher flex. *Indian Journal of Microbiology Research*, 11(1), 48-52.
- Dhibika, M., Madhusudhan, N. S., Malini, A., & Natarajan, M. (2023). Comparison of Manual and Automated Nucleic Acid (RNA) Extraction Methods for the Detection of SARS-CoV-2 by qRT-PCR. *Cureus*, 15(3), e36773.
- Hossain, A. D., Jarolimova, J., Elnaïem, A., Huang, C. X., Richterman, A., & Ivers, L. C. (2022). Effectiveness of contact tracing in the control of infectious diseases: a systematic review. *Lancet Public Health*, 7, e259-273. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(22\)00001-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2468-2667(22)00001-9)
- Jeffries, M. K. S., Kiss, A. J., Smith, A. W., & Oris, J. T. (2014). A comparison of commercially-available automated and manual extraction kits for the isolation of total RNA from small tissue samples. *BMC Biotechnology*, 14, 94. <https://doi.org/http://www.biomedcentral.com/1472-6750/14/94>
- Joseph, N., Bahtiar, N., Mahmud, F., Hamid, K. A., Raman, R., Chee, H. Y., & Nordin, S. A. (2022). Comparison of Automated and Manual Viral Nucleic Acid Extraction Kits for Covid-19 Detection Using qRT-



- PCR. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 18(1), 14-19.
- Klein, S., Müller, T. G., Khalid, D., Sonntag-Buck, V., Heuser, A.-M., Glass, B., Meurer, M., Morales, I., Schillak, A., Freistaedter, A., Ambiel, I., Winter, S. L., Zimmermann, L., Naumoska, T., Bubeck, F., Kirrmaier, D., Ullrich, S., Miranda, I. B., Anders, S., . . . Chlanda, P. (2020). SARS-CoV-2 RNA Extraction Using Magnetic Beads for Rapid Large-Scale Testing by RT-qPCR and RT-LAMP. *Viruses*, 12, 863. <https://doi.org/10.3390/v12080863>
- Pusparini. (2020). Tes serologi dan polimerase chain reaction (PCR) untuk deteksi SARS-CoV-2/COVID-19. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 3(2), 46-48. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18051/JBiomedKes.2020.v3.46-48>
- Sabat, J., Subhadra, S., Rath, S., Ho, L. M., Kanungo, S., Panda, S., Mandal, M. C., Dash, S., Pati, S., & Turuk, J. (2021). Yielding quality viral RNA by using two different chemistries: a comparative performance study. *BioTechniques*, 71, 511-515. <https://doi.org/10.2144/btn-2021-0054>
- Sahu, S. K., Sharma, A., Lathi, O. P., Sarawat, S., & Yadav, N. (2021). A Comparative Study of Silica Spin Column Based and Magnetic Bead Based RNA Extraction and Purification Kits on Covid -19 Samples. *International Journal of Medical Research Professionals*, 7(1), 56-62.
- Samant, S., Hamdeh, E., & Lee, C. (2020). *Viral RNA Isolation Methods Reviewed: Spin vs. Magnetic*. kbDNA Inc. Retrieved 02 May 2025 from www.kbdna.com/publishinglab/viral-RNA-isolation-methods-reviewed-spin-vs-magnetic
- Torner, N. (2023). The end of COVID-19 public health emergency of international concern (PHEIC): And now what? *Vacunas*, 1-2.