

STUDI LITERATUR : ISOLASI DNA GENOMBACTERI METODE SODIUM DODECYL SULPHATE (SDS)- NaCl

Euis Syaripah Alfatmah¹, Sitti Romlah¹, Wikan Mahargyani¹

Prodi Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Jenderal Achmad Yani Cimahi

ABSTRAK

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi tidak bisa lepas dari tingkat analisis tingkat molekuler yang melibatkan asam nukleat (DNA). Perkembangan dalam bidang molekuler memungkinkan untuk mendeteksi penyakit lebih awal, lebih cepat dan akurat. Analisis tingkat molekuler dengan DNA objeknya diawali dengan proses isolasi DNA.

*Isolasi DNA adalah proses pemisahan DNA dari komponen-komponen penyusun sel lainnya. Proses ini melibatkan penghancuran membran sel (lisis), pemisahan DNA dari protein, dan pemurnian (purifikasi) DNA. Proses isolasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya yaitu dengan metode SDS. Isolasi DNA dengan menggunakan SDS dapat digunakan untuk semua makhluk hidup, salah satunya yaitu isolasi DNA dari sampel kultur bakteri. SDS digunakan sebagai pemecahan dinding sel bakteri secara kimia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hasil dari isolasi DNA dengan menggunakan metode SDS-NaCl. Metode pada penelitian ini menggunakan Systematic Literature Review. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif yaitu berupa konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA serta data berupa visualisasi pita DNA. Hasil isolasi DNA dari penelitian Faatih memiliki nilai rata-rata konsentrasi DNA sebesar 39,67 µg/ml untuk sampel dari *Escherichia coli* dan 47,75 µg/ml untuk sampel dari *Salmonella sp.*, serta tingkat kemurnian DNA berkisar di nilai < 1,8 untuk sampel dari *Escherichia coli* maupun *Salmonella sp.* Sedangkan dari penelitian Widyastuti memiliki tingkat kemurnian DNA yang cukup baik yaitu berkisar di nilai 1,9 untuk sampel dari *Salmonella sp.* Disarankan penelitian selanjutnya melakukan isolasi DNA pada bakteri *Salmonella sp* dengan penambahan RNase dan menggunakan metode SDSNaCl yang dimodifikasi menggunakan LiCl pada kultur bakteri lain*

Kata kunci : Isolasi DNA, Metode SDS-NaCl, Konsentrasi DNA, Kemurnian DNA.

PENDAHULUAN

Proses isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik secara konvensional maupun kit. Proses isolasi DNA genom secara konvensional dapat dilakukan antara lain dengan metode fenol kloroform, metode Sodium Dodecyl Sulphate (SDS), dan metode Cetyl Trimethylammonium Bromide (CTAB). Dengan seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan menggunakan kit dari berbagai merek (Fitriya et al., 2015).

Metode isolasi DNA genom yang tepat merupakan tahap yang penting dalam analisis molekuler di bidang mikrobiologi, salah satunya dalam kajian bakteriologi. Oleh karena itu, metode isolasi DNA genom yang dapat digunakan dalam isolasi DNA bakteri Gram positif sekaligus bakteri Gram negatif sangat diperlukan. Metode-metode isolasi DNA genom seringkali mengalami modifikasi sesuai kebutuhan di laboratorium (Fitriya et al., 2015).

Salah satunya yaitu pada penelitian dari Li-jie et al (2016) yang melakukan modifikasi pada 3 metode ekstraksi RNA dengan reagen NaCl, SDS, dan LiCl. Sebelum dilakukan modifikasi, metode LiCl merupakan metode ekstraksi RNA yang lebih baik dari NaCl dan SDS. Lithium Chloride (LiCl) memiliki kemampuan untuk menghancurkan kapsul lemak dan merusak integritas sel, denaturasi protein dan menginaktivasi nuklease. Menurut Ahmad et al (2004) penggunaan SDS bersama garam dalam isolasi DNA ternyata menguntungkan, karena keduanya dapat berfungsi sebagai lysis buffer. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya akan dilakukan isolasi DNA genom pada bakteri dengan metode SDS – NaCl.

METODE

Penelitian menggunakan metode Systematic Literature Review (SLR). Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan mencari beberapa jurnal penelitian yang dipublikasikan melalui database elektronik yaitu Google scholar. Kata kunci (keyword) yang digunakan untuk jurnal penelitian yaitu DNA, isolasi DNA bakteri dan metode SDS.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian dari beberapa sumber literatur diantaranya penelitian Faatih, 2009 yang melakukan isolasi DNA pada beberapa bakteri dengan menggunakan metode SDS dengan NaCl didapatkan hasil berupa pita pada gel agarose 1% (tertera di lampiran 1), konsentrasi dan kemurnian DNA seperti tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi DNA dari Hasil Isolasi DNA dengan Metode SDSNaCl(Faatih, 2009)

Sampel	Konsentrasi DNA (µg/ml)	Rasio λ 260 / λ 280
Escherichia coli		
1	13.8	1.75
2	70.75	1.27
3	10.35	1.06
4	63.75	1.92
Salmonella sp		
1	55.85	1.14
2	39.65	1.49

Pada penelitian Widyastuti, 2017 yang melakukan isolasi DNA Salmonella sp dengan metode SDS-NaCl didapatkan hasil nilai optical density (OD) seperti tertera pada tabel 4.2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Optical Density (OD) Hasil Isolasi DNA(Widyastuti, 2017)

Salmonella sp	Rasio λ 260 / λ 280
1	1,9615
2	1,9185
3	2,0053
4	1,9899
5	1,9822

PEMBAHASAN

Systematic Literature Review yang dilakukan terhadap 2 penelitian yang sesuai dengan tema penelitian penulis yaitu tentang Isolasi DNA pada bakteri dengan metode SDS. Pada hasil penelitian didapatkan data bahwa nilai rasio kemurnian hasil isolasi DNA masih ada beberapa yang belum murni. Hal tersebut kemungkinan masih terdapat kontaminasi pada hasil isolasi. Dimana nilai rasio kemurnian yang baik untuk DNA hasil isolasi adalah antara 1,8-2,0.

Isolasi DNA adalah proses pemisahan DNA dari komponen-komponen penyusun sel lainnya. Proses isolasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya yaitu menggunakan metode SDS. SDS disini digunakan sebagai pemecahan dinding sel

bakteri secara kimia (Fatchiyah et al., 2018). Pada hasil penelitian (Faatih, 2009) yang memiliki rata-rata nilai kemurnian <1,8 mengindikasikan bahwa pada hasil isolasi DNA masih belum murni, kemungkinan masih terdapat kontaminasi oleh protein. Hal tersebut kemungkinan bisa disebabkan oleh proses ekstraksi DNA yang kurang optimum, dimana pada proses ini penelitian (Faatih, 2009) menggunakan SDS dan NaCl. Pada penelitian ini juga tidak adanya perlakuan penambahan RNase yang kemungkinan dapat menyebabkan isolat DNA terkontaminasi oleh RNA. Untuk mengatasi hal tersebut bisa melakukan modifikasi terhadap senyawa kimianya, seperti dapat menggunakan LiCl sebagai buffer lisis, karena LiCl memiliki kemampuan untuk menghancurkan kapsul lemak dan merusak integritas sel, denaturasi protein dan dapat menginaktivasi nuklease. LiCl juga dapat digunakan untuk menghilangkan sisa-sisa RNA, sehingga hasil isolat yang didapatkan bebas dari kontaminasi RNA (Ahmad et al., 2004).

Sedangkan pada hasil penelitian (Widyastuti, 2017) memiliki rata-rata nilai kemurnian DNA yang baik yaitu berkisar 1,9. Tetapi pada sampel no 3 memiliki nilai kemurnian >2,0 yang kemungkinan masih adanya kontaminasi oleh RNA. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh penggunaan RNase yang kurang baik, dimana RNase yang akan digunakan harus berada di suhu ruang agar RNase dapat bekerja secara optimum.

Berdasarkan hasil penelitian dari 2 literatur diatas, kedua peneliti sama-sama melakukan isolasi DNA dengan menggunakan SDS dan

NaCl tetapi dengan prosedur kerja yang berbeda yaitu pada penelitian (Faatih, 2009) tidak menggunakan RNase sedangkan pada penelitian (Widyastuti, 2017) menggunakan RNase. Hasil dari prosedur kerja yang dilakukan oleh penelitian (Faatih, 2009) menunjukkan kemurnian DNA yang dihasilkan masih belum baik, yaitu masih adanya kontaminasi oleh protein. Sedangkan pada hasil dari prosedur kerja yang dilakukan oleh penelitian (Widyastuti, 2017) menunjukkan kemurnian DNA yang dihasilkan baik yaitu berada pada rentang 1,8-2,0.

PENUTUP

Berdasarkan hasil dari penelaahan systematic literature review mengenai isolasi DNA metode SDS pada bakteri diperoleh kesimpulan bahwa hasil isolasi DNA pada bakteri dengan metode SDS-NaCl dapat divisualisasi dengan baik pada elektroforesis tetapi masih ada beberapa yang belum baik tingkat kemurnian DNanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S. M., Ganaie, M. M., Qazi, P. H., Verma, V., Basir, S. F., & Qazi, G. N. (2004). Rapid DNA Isolation Protocol for Angiospermic Plants. *Bulg. J. Plant Physiol*, 30, 25–33.
- Calladine, C. (2014). *Understanding DNA*. Igarss, 1–5. Champe, C. P., Harvey, A. R., Ferrier, & R. D. (2010). *Biokimia : Ulasan Bergambar*. EGC.
- Faatih, M. (2009). Isolasi dan digesti DNA kromosom. *J Penelitian Sains Dan Teknologi*, 20(1), 61–67.
- Fatchiyah. (2011). Uji Kuantitatif dan Uji Kualitatif. In Erlangga (Ed.), *Biologi Molekuler. Prinsip Dasar Analisis* (pp. 33–41).
- Fatchiyah, Widyarti, S., & Arumingtyas, E. L. (2018). *Teknik Analisa Biologi Molekuler*. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

- Fitriya, R. T., Ibrahim, M., & Lisdiana, L. (2015). Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*, 4(1), 87–92.
- Giacomazzi, L., Umari, P., & Pasquarello, A. (2005). Medium-Range Structural Properties of Vitreous Germania Obtained through First-Principles Analysis of Vibrational Spectra. *Physical Review Letters*, 95(7). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.95.075505>
- Khosravinia, H., Murthy, H. N. N., Parasad, D. T., & Pirany, N. (2007). Optimizing Factors Influencing DNA Extraction from Fresh Whole Avian Blood. *African Journal of Biotechnology*, 6(4), 481–486. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2034>
- Kurniawan, A. (2008). Isolasi DNA. Li-jie, M., Jia-xing, Q., Xin-yu, K., Jun-juan, W., Xiang-ming, X., & Xiao-ping, H. (2016). An improved method for RNA extraction from urediniospores of and wheat leaves infected by an obligate fungal pathogen, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(6), 1293–1303. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61250-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61250-3)
- Muladno. (2010). *Teknologi Rekayasa Genetika (Kedua)*. IPB Press. Murray, R. K., Granner, D. K., Rodwell, V. W., & Robert, K. (2012). *Biokimia Haper (27th ed.)*. EGC.
- Octavina, A. F. (2020). Diagnostik Molekuler: Potensi Dalam Jasa dan Penelitian Kesehatan. *Bioteknologi LIPI*. <http://www.biotek.lipi.go.id/>
- Pirttila, A. M., Hirsikorpi, M., Kamarainen, T., Jaakola, L., & Hohtola, A. (2001). DNA Isolation Method for Medicinal and Aromatic Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19.
- Pray, L. (2008). *Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick*. *Nature Education*, 1(1), 100. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/discovery-of-dna-structure-andfunction-watson-397/>
- Rahmawati, P. (2012). Analisis cemaran Daging Babi pada produk Dendeng Sapi yang Beredar di Wilayah Ciputat dengan Metode Amplifikasi DNA Menggunakan Real-Time PCR.
- Sugiharto, B. (2015). *Dari Biologi ke Bioteknologi Molekul : Pengetahuan, Pembelajaran dan Perkembangan Teknologinya*. *Jurnal Uns*, 12(1).
- Surzycki, S. J. (2000). *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer-Verlag. Utami, A., Meryalita, R., Prihatin, N. A., Ambarsari, L., Kirniatin, P. A., &
- Nurcholis, W. (2012). Variasi Metode Isolasi DNA Daun Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*, 978–979.
- Widyastuti, D. A. (2017). Isolasi DNA Kromosom *Salmonella* sp . dan Visualisasinya pada Elektroforesis Gel Agarosa. *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek)*. ISSN : 2527-533X, 311–317.
- Yuwono, T. (2009). *Biologi Molekular*. Erlangga.