

Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*

The Effectiveness of Modified DNA Isolation Method of Kit and CTAB/NaCl ON Staphylococcus aureus and Shigella dysenteriae

Riya Tyas Fitriya*, Muslimin Ibrahim, dan Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: riya.tyas@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini ialah mendeskripsikan keefektifan metode isolasi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan metode QIAamp DNA Mini Kit yang dimodifikasi dan CTAB/NaCl yang dimodifikasi dengan parameter hasil berupa konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA. Modifikasi dilakukan dengan mengganti Proteinase K dengan amonium asetat. Data dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi lebih efektif daripada metode QIAamp DNA Mini Kit yang dimodifikasi. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif berupa konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA dan data semi kualitatif berupa visualisasi pita DNA. Konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi diperoleh pada sampel DNA hasil metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi sebesar 2140,7 ng/ μ l pada *S. aureus* dengan tingkat kemurnian ($A_{260/280}$) sebesar 2,10 dan ($A_{260/230}$) sebesar 2,28 dan konsentrasi sebesar 988,6 ng/ μ l pada *S. dysenteriae* dengan tingkat kemurnian ($A_{260/280}$) sebesar 1,81 dan ($A_{260/230}$) sebesar 2,10. Konsentrasi dan tingkat kemurnian yang diperoleh pada sampel DNA kedua bakteri uji hasil metode QIAamp DNA Mini Kit yang dimodifikasi rendah yaitu sebesar 1,0 ng/ μ l pada *S. aureus* dengan tingkat kemurnian ($A_{260/280}$) sebesar 1,49 dan ($A_{260/230}$) sebesar 2,01 dan konsentrasi sebesar 3,8 ng/ μ l pada *S. dysenteriae* dengan tingkat kemurnian ($A_{260/280}$) sebesar 2,73 dan ($A_{260/230}$) sebesar 0,27. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi lebih efektif daripada metode QIAamp DNA Mini Kit yang dimodifikasi.

Kata Kunci: metode CTAB/NaCl; metode QIAamp DNA Mini Kit; modifikasi; *Staphylococcus aureus*; *Shigella dysenteriae*

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the effectiveness of DNA isolation methods of modified CTAB/NaCl method and modified QIAamp DNA Mini Kit method on *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*. The parameters of the effectiveness were concentration and the purity of DNA. The modification was done by substitution of Proteinase K with ammonium acetate. Data were analyzed quantitatively descriptive. The results showed that modified CTAB/NaCl method was more effective than modified QIAamp DNA Mini Kit method. High concentration and high purity of DNA sample was showed on modified CTAB/NaCl method, 2140.7 ng/ μ l on *S. aureus* with the purity ($A_{260/280}$) was 2.10 and ($A_{260/230}$) was 2.28 and 988.6 ng/ μ l on *S. dysenteriae* with the purity ($A_{260/280}$) was 1.81 dan ($A_{260/230}$) was 2.10. Low concentration and purity of DNA sample is yield from modified QIAamp DNA Mini Kit method, 1.0 ng/ μ l on *S. aureus* with the purity ($A_{260/280}$) was 1.49 and ($A_{260/230}$) was 2.01 and 3.8 ng/ μ l on *S. dysenteriae* with the purity ($A_{260/280}$) was 2.73 and ($A_{260/230}$) was 0.27. This study showed that the modified CTAB/NaCl method was more effective than the modified QIAamp DNA Mini Kit method that shown by the concentration and purity of DNA.

Key words: CTAB/NaCl method; QIAamp DNA Mini Kit method; modification; *Staphylococcus aureus*; *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Asam nukleat merupakan elemen penting pada seluruh organisme yang berperan mengatur seluruh aktivitas hidup. Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi juga tidak bisa lepas dari analisis tingkat molekuler yang melibatkan asam nukleat (DNA). Analisis tingkat molekuler dengan DNA sebagai objeknya diawali dengan proses ekstraksi DNA untuk mendapatkan DNA

yang murni dengan konsentrasi tinggi sehingga dapat digunakan untuk analisis molekuler selanjutnya, seperti PCR, RLFP, dan RAPD (Fatchiyah, 2011).

Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik konvensional maupun menggunakan kit. Ekstraksi DNA secara konvensional bisa dilakukan antara lain dengan metode CTAB/NaCl (Mulyani *et al.*, 2011),

metode SDS (Sambrook *et al.*, 1982), dan metode fenol kloroform (Tenriulo *et al.*, 2001). Seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, ekstraksi DNA dapat dilakukan menggunakan kit dari berbagai merk.

Analisis molekuler dilakukan dalam berbagai bidang termasuk bidang mikrobiologi. Penelitian yang mengarah kepada analisis molekuler sudah banyak dilakukan sejak beberapa dekade terakhir, misalnya penelitian yang dilakukan oleh Walker (1972) tentang isolasi mtDNA pada *yeast* menggunakan teknik *dye-buoyant-density*, penelitian tentang isolasi DNA darivirus herpes dan sel yang terinfeksi menggunakan elektroforesis gel poliakrilamida (Ben-Zeev *et al.*, 1974), penelitian tentang perbandingan metode isolasi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan detergen dan *guanidine hydrochloride* oleh Dyer dan Iandolo (1983), dan isolasi DNA plasmid *Butyrivibrio fibrisolvens* menggunakan bufer lisis SDS-NaCl dan *polyethylene glycol* 6000 yang dilakukan oleh Teather (1982).

Metode isolasi DNA yang tepat merupakan tahap yang penting dalam analisis molekuler di bidang mikrobiologi, salah satunya dalam kajian bakteriologi. Oleh karena itu, metode isolasi DNA yang dapat digunakan dalam isolasi DNA bakteri gram positif sekaligus bakteri gram negatif sangat diperlukan. Salah satu metode yang umum digunakan untuk isolasi DNA bakteri ialah metode CTAB/NaCl, tetapi perkembangan teknologi saat ini telah menghasilkan produk dalam bentuk *kit* untuk isolasi DNA. *Kit* untuk isolasi DNA dikeluarkan oleh beberapa perusahaan dagang, salah satu produknya ialah *QIAamp DNA Mini Kit* (Qiagen). *QIAamp DNA Mini Kit* (Qiagen) merupakan *kit* yang digunakan khusus untuk isolasi DNA bakteri baik dari kultur murni maupun dari sekret makhluk hidup seperti darah, dan dapat digunakan dengan alat otomatis (robotik) yang bersifat *closed system*. Metode-metode isolasi DNA seringkali mengalami modifikasi sesuai kebutuhan di laboratorium. Pada penelitian ini dilakukan modifikasi terhadap kedua metode tersebut, yaitu dengan mengganti bahan Proteinase K dengan larutan amonium asetat (NH_4COOH). Modifikasi tersebut dilakukan karena harga Proteinase K yang relatif mahal dan ketersediaan di laboratorium yang terbatas. Penggantian dengan larutan NH_4COOH dilakukan dengan pertimbangan kesamaan sifat kedua bahan tersebut, yaitu mampu memisahkan protein dari DNA. Menurut Fatchiyah *et al.* (2100) protein merupakan salah satu sumber kontaminan pada isolasi DNA, yang menyebabkan tingkat kemurnian DNA hasil

isolasi rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan keefektifan metode isolasi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi dan CTAB/NaCl yang dimodifikasi dengan parameter hasil berupa konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu FMIPA Universitas Negeri Surabaya, Surabaya. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap meliputi persiapan bakteri uji, tahap isolasi DNA, pengukuran sampel DNA bakteri uji secara kuantitatif dengan teknik spektrofotometri, dan pengukuran sampel DNA bakteri uji secara semi kualitatif dengan elektroforesis gel agarosa.

Alat yang digunakan meliputi *QIAcube Automatic DNA Extraction* (Qiagen) yang digunakan untuk isolasi DNA secara robotik, mikropipet, *microtube* 1,5 ml, mikrotip (*blue tip*, *yellow tip*, *white tip*), sentrifus, spektrofotometer (nanodrop) untuk mengukur konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA, *Laminar Air Flow* (LAF), *microwave*, *chamber* elektroforesis, tabung reaksi, sarung tangan, botol vial, botol 100 ml, autoklaf, jarum ose, lampu spiritus, botol semprot, dan rak tabung reaksi.

Bahan yang digunakan meliputi kultur bakteri *Staphylococcus aureus* JCM 2179 dan *Shigella dysenteriae*, buffer TE (Tris EDTA), SDS 10%, NaCl 5 M, larutan CTAB, kloroform, isoamil alkohol, fenol, isopropanol, etanol 70%, etanol 96%, NH_4COOH 5 M, media *Luria Bertani* (LB), akuades, alkohol 70%, *QIAamp DNA Mini Kit*, agarosa, TBE (*Tris Boric EDTA*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), EtBr (*Ethidium Bromide*), dan *loading dye*.

Isolasi DNA pada bakteri uji diawali dengan proses persiapan kultur bakteri uji. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* JCM 2179 dan *Shigella dysenteriae* diremajakan dalam masing-masing 5 ml media LB dan diinkubasi dengan suhu 30°C sampai larutan jenuh selama 48 jam. Jumlah sel bakteri dihitung menggunakan *haemocytometer* sebanyak 4.0×10^6 pada *S. aureus* dan 3.0×10^6 pada *S. dysenteriae*. Isolasi DNA bakteri uji dengan menggunakan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi dilakukan dengan cara mengambil sampel larutan kultur bakteri sebanyak 1 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit pada suhu 4°C sampai terbentuk pelet. Tahap selanjutnya dilakukan proses isolasi DNA dengan menambahkan bahan 567 μl buffer

TE, 30 µl SDS 10% dan 3 µl NH₄COOH 5 M yang diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Pada suspensi ditambahkan NaCl 5 M dan larutan CTAB/NaCl yang kemudian diinkubasi lagi selama 10 menit pada suhu 65°C. Suspensi tersebut ditambah C : I (24 : 1) sebanding dengan volume sampel (1 : 1). Hasilnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 4-5 menit. *Upper fase* dipindahkan kemudian ditambahkan P : C : I (25 : 24 : 1). Suspensi tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit hingga terbentuk pelet kemudian ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 0,6 kali volume sampel dan ditambah 50 µl etanol 70% dingin. Sampel disentrifugasi dan pelet diresuspensi dengan 100 µl buffer TE, selanjutnya sampel disimpan pada suhu -20°C, hingga dilakukan analisis lanjut (Ausubel *et al.*, 2003).

Isolasi DNA menggunakan *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi diawali dengan peremajaan kultur bakteri uji dalam 5 ml media LB yang diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam seperti pada proses isolasi DNA metode CTAB/NaCl. Jumlah sel bakteri dihitung menggunakan *haemocytometer* sebanyak 4.0x10⁶ pada *S. aureus* dan 3.0x10⁶ pada *s. dysenteriae*. Isolasi DNA dilakukan menggunakan *QIACube Automatic DNA Extraction*. Kultur bakteri diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 7500 rpm dan pelet diresuspensikan dengan PBS 80 µl. Tahap isolasi selanjutnya dilakukan secara otomatis menggunakan alat *Qiacube Automatic DNA Extraction (Qiagen)*. Tahap pertama dalam proses isolasi DNA ini adalah penambahan buffer ATL pada suspensi bakteri uji sampai dengan volume akhir 180 µl kemudian ditambahkan NH₄COOH 5 M sebanyak 20 µl dan diinkubasi pada suhu 56°C hingga sampel lisis seluruhnya. Suspensi di-*spindown* dan ditambahkan buffer AL sebanyak 200 µl ke dalam suspensi dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 70°C. Suspensi tersebut selanjutnya ditambah etanol (96-100%) sebanyak 200 µl dan dipindahkan ke dalam *QIAamp Spin Column* untuk proses pengumpulan sampel DNA hasil ekstraksi. Sampel DNA hasil ekstraksi selanjutnya ditambahkan buffer AW1 sebanyak 500 µl dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Sampel selanjutnya ditambahkan buffer AW2 sebanyak 500 µl kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm selama 1 menit dan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml steril baru dan ditambahkan buffer AE sebanyak 200 µl kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1

menit. Tahap ini dapat diulangi dua kali untuk optimalisasi hasil (Qiagen, 2003).

Sampel DNA bakteri uji yang merupakan hasil isolasi kedua metode diukur secara kuantitatif menggunakan teknik spektrofotometri. Sampel DNA bakteri uji dihitung konsentrasi dan tingkat kemurniannya menggunakan spektrofotometer. Sampel DNA diambil sebanyak 1-2 µl. Setiap pergantian sampel uji, *pedestal* harus dibersihkan dengan akuades steril agar tidak terjadi *cross-contamination*, dan setiap pengambilan sampel DNA yang berbeda harus mengganti mikrotip (Thermoscientific, 2013). Konsentrasi DNA yang telah diukur diuji dengan uji regresi sederhana untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh jumlah sel bakteri terhadap konsentrasi DNA yang diperoleh.

Sampel DNA bakteri uji hasil isolasi kedua metode juga diukur secara semi kualitatif dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Gel agarosa dimasukkan ke dalam *chamber* elektroforesis dan ditambahkan buffer TBE 1X sampai gel terendam. Tahap selanjutnya adalah penambahan *loading dye* (1 : 1), kemudian dimasukkan pada masing-masing sumuran, dan *running* dilakukan pada voltase 50V selama 1-2 jam. Elektroforesis dihentikan saat *loading dye* mencapai jarak 1-1,5 cm dari tepi gel. Gel kemudian dipindahkan ke UV-*transiluminator* untuk mengamati visualisasi hasil elektroforesis serta mendokumentasikan hasilnya.

Data yang dihasilkan berupa konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA bakteri *Staphylococcus aureus* JCM 2179 dan *Shigella dysenteriae*. Menurut Fatchiyah (2011) konsentrasi DNA memiliki rentang nilai bervariasi, semakin tinggi konsentrasi, semakin baik kualitas sampel DNA, dan DNA dikatakan murni jika menunjukkan kisaran nilai 1,8-2,2. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kuantitatif.

HASIL

Data yang dihasilkan dari penelitian ini berupa data kuantitatif yang diukur menggunakan teknik spektrofotometri dan data semi kualitatif menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Sampel DNA yang dihasilkan ialah DNA kromosomal bakteri uji. Jumlah bakteri uji yang digunakan pada saat proses isolasi DNA adalah 4,0x10⁶sel/ml pada bakteri *S. aureus* dan 3,0x10⁶sel/ml pada bakteri *S. dysenteriae*. Hasil analisis regresi sederhana menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh antara jumlah sel bakteri terhadap konsentrasi DNA yang diperoleh pada proses isolasi. Data

kuantitatif konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi dan *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi disajikan dalam Tabel 1.

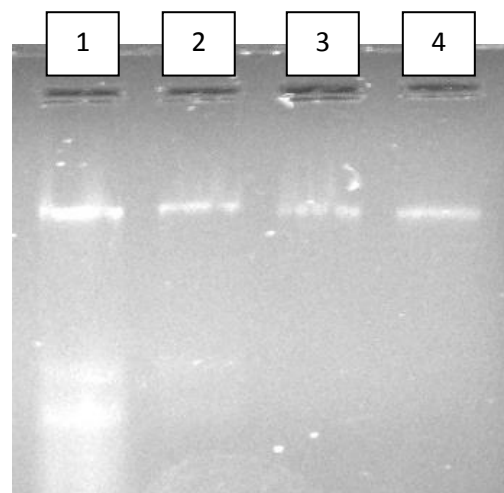
Konsentrasi tertinggi ditunjukkan oleh sampel DNA bakteri *S. aureus* yang diisolasi dengan menggunakan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi yaitu sebesar 2140,7 ng/μl. Tingkat kemurnian DNA bakteri *S. aureus* tersebut juga relatif tinggi yaitu sebesar 2,10 ($A_{260/280}$) dan sebesar 2,28 ($A_{260/230}$). Sampel lain yang menunjukkan tingkat kemurnian yang tinggi ialah sampel DNA *S. dysenteriae* hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi yaitu sebesar 1,81 ($A_{260/280}$) dan sebesar 2,10 ($A_{260/230}$). Konsentrasi yang paling rendah ditunjukkan oleh

sampel DNA *S. aureus* yang diisolasi dengan menggunakan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yaitu sebesar 1,0 ng/μl. Sampel DNA tersebut juga menunjukkan tingkat kemurnian yang rendah. Menurut Fatchiyah *et al.* (2011), DNA dikatakan memiliki tingkat kemurnian yang tinggi jika rasio absorbansi DNA yang diukur pada ($A_{260/280}$) menunjukkan nilai 1,8 - 2,0 dan rasio absorbansi DNA ($A_{260/230}$) menunjukkan nilai 2,0-2,2.

Sampel DNA tersebut kemudian divisualisasi melalui proses elektroforesis gel agarosa 1% untuk melihat hasil isolasi secara semi kualitatif. Visualisasi gel agarosa dilakukan menggunakan *UV-transilluminator*. Visualisasi sampel DNA dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran sampel DNA secara kuantitatif

Metode	Bakteri uji	Konsentrasi (ng/μl)	Tingkat kemurnian	
			$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
<i>QIAamp DNA Mini Kit</i> yang dimodifikasi	<i>Staphylococcus aureus</i> JCM 2179	1,0	1,49	2,01
	<i>Shigella dysenteriae</i>	3,8	2,73	0,27
CTAB/NaCl yang dimodifikasi	<i>Staphylococcus aureus</i> JCM 2179	2140,7	2,10	2,28
	<i>Shigella dysenteriae</i>	988,6	1,81	2,10



Gambar 1. Hasil visualisasi proses elektroforesis DNA genom bakteri uji; 1= DNA bakteri uji *Shigella dysenteriae* hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi, 2= DNA bakteri uji *Shigella dysenteriae* hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi, 3= DNA bakteri uji *Shigella dysenteriae* hasil isolasi dengan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi, 4= DNA bakteri uji *Staphylococcus aureus* hasil isolasi dengan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa sampel DNA setiap bakteri uji berhasil diisolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi dan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi. Sampel DNA yang berhasil diisolasi tampak sebagai pita. Pita DNA yang paling terang dan tebal ditunjukkan oleh sampel DNA bakteri *S. dysenteriae* hasil isolasi dengan metode

CTAB/NaCl yang dimodifikasi. Selain pita DNA yang tebal dan terang tersebut, pada sampel DNA *S. dysenteriae* terbentuk 2 pita DNA di bawah pita DNA genom. Pita DNA yang paling tipis dan samar ditunjukkan oleh sampel DNA bakteri *S. dysenteriae* hasil isolasi dengan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode konvensional CTAB/NaCl yang dimodifikasi lebih efektif dari metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi. Konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA kedua isolat menunjukkan nilai yang lebih besar pada metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi. Modifikasi yang dilakukan pada kedua metode ialah dengan mengganti salah satu bahan yang menjadi komponen isolasi DNA bakteri, yaitu Proteinase K, dengan bahan pengganti berupa amonium asetat (NH_4COOH). Proteinase K berfungsi menghilangkan kontaminan berupa protein dengan cara mendegradasi protein yaitu dengan memotong atau mencerna protein, dan dapat bekerja tanpa adanya detergen pelisis (Thermoscientific, 2012). Amonium asetat menghilangkan protein dan kontaminan lainnya dengan cara mempresipitasikannya. Menurut Aidar (2007), amonium asetat dapat menjadi bahan presipitat dalam proses purifikasi DNA. Substitusi dilakukan dengan dasar kedua bahan tersebut memiliki karakteristik fungsi yang sama dalam proses isolasi DNA, yakni memisahkan protein dari asam nukleat.

Sampel DNA hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi lebih besar konsentrasi dan tingkat kemurniannya daripada sampel DNA hasil isolasi dengan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa amonium asetat dapat bekerja efektif menggantikan Proteinase K pada metode CTAB/NaCl, sehingga dapat dijadikan alternatif jika Proteinase K tidak tersedia saat proses isolasi DNA. Amonium asetat dapat mempresipitasi protein dan debris sel yang sebelumnya mengalami proses pelisisan menggunakan detergen pelisis. Metode CTAB/NaCl menggunakan detergen pelisis berupa CTAB yang memiliki kekuatan melisis yang kuat (Sambrook *et al.*, 1982). Adanya CTAB dapat memudahkan amonium asetat mempresipitasi protein dan debris sel.

Metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi menghasilkan sampel DNA dengan konsentrasi dan tingkat kemurnian yang rendah. Hasil tersebut menunjukkan bahwa amonium asetat tidak cukup efektif menggantikan fungsi Proteinase K. Kurang efektifnya amonium asetat dalam menggantikan fungsi Proteinase K pada metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi disebabkan komposisi buffer yang dibuat oleh produsen *kit*. Komposisi buffer ekstraksi dalam *QIAamp DNA Mini Kit* dalam proses pelisisan yaitu buffer ATL dan AL akan dapat berfungsi

optimal dengan keberadaan enzim Proteinase K. Amonium asetat tidak dapat mengoptimalkan proses pelisisan sel seperti halnya Proteinase K (Putranto *et al.*, 2006).

Analisis regresi sederhana antara jumlah bakteri dan konsentrasi sampel DNA bakteri uji yang dihasilkan menggunakan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi dan *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh antara jumlah bakteri dan konsentrasi sampel DNA yang dihasilkan. Perbedaan konsentrasi sampel DNA bakteri uji menggunakan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi dan metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi hanya karena perbedaan metode yang digunakan.

Hasil visualisasi berupa pita DNA yang tebal dan terang ditunjukkan oleh sampel DNA bakteri *S. dysenteriae* yang diisolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi. Mulyani *et al.* (2011) menyatakan bahwa sampel DNA yang tervisualisasikan sebagai pita yang terang dan tebal memiliki konsentrasi dan tingkat kemurnian tinggi. Pita DNA yang tebal dan terang tersebut pada penelitian ini juga memiliki konsentrasi dan tingkat kemurnian yang tinggi. Sampel DNA bakteri *S. dysenteriae* hasil isolasi dengan metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi juga membentuk 2 pita DNA di bawah pita yang tebal dan terang tersebut. Dua pita DNA ini terbentuk karena DNA hasil isolasi mengalami fragmentasi. Fragmentasi dapat terjadi selama proses ekstraksi, salah satunya pada waktu proses homogenasi menggunakan *vortex*. Anam (2010) dalam Mulyani *et al.* (2011) menyebutkan bahwa proses homogenasi menggunakan *vortex mix* dapat membantu proses pelisisan, namun dapat menyebabkan DNA terpotong-potong sehingga menyebabkan terbentuknya beberapa pita DNA ketika dielektroforesis.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode konvensional CTAB/NaCl yang dimodifikasi lebih efektif daripada metode *QIAamp DNA Mini Kit* yang dimodifikasi berdasarkan konsentrasi dan tingkat kemurnian sampel DNA hasil isolasi yang lebih tinggi pada metode CTAB/NaCl yang dimodifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidar MA, 2007. Simple and Cost-Effective Protocol for DA Isolation from Buccal Epithelial Cells. *Braz Dent J*, 18(2): 148-152.

- Ausubel FM, 2003. Preparation of Genomic DNA From Bacteria. pp 213-217 in Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA & Struhl K (eds). *Current Protocols in Molecular Biology*. Cambridge: John Wiley & Sons, Inc.
- Ben-zeev AE, Weinberg, Becker Y, 1974. Isolation of Herpes Simplex Virus DNA from Virus Particles and Infected Cells by Electrophoresis in Polyacrilamide Gels. *J. Gen. Virol*, 25: 63-73.
- Dyer DW, Iandolo JJ, 1983. Rapid Isolation of DNA from *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol*, 46(1): 283-285.
- Fatchiyah, 2011. Uji Kuantitatif dan Uji Kualitatif. hal 33-41 dalam Arumingtyas EL, Widyarti S, Rahayu S (eds). *Biologi Molekular. Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Mulyani Y, Purwanto A, Nurruhwati I, 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini *Koi Herpes Virus* (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Jatinangor : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. *Jurnal Akuatika*, 8(11): 1-16.
- Putranto WS, Budiarti S, Suhartono MT, Wibawan IWT, Hayati Z, 2006. Pemurnian Ekstraseluler Hyaluronidase *Streptococcus agalatica* (Streptokokus Grup B). *Jurnal Ilmu Ternak*, 6(1): 16-22.
- QIAGEN. 2003. *QIAamp DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit Handbook*.
- Sambrook J, 1982. Fragment DNA in Bacterial System. pp 29-37 in Maniatis T, Fritsch EF (eds). *Molecular Cloning A Laboratory Manual*. USA: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Teather RM, 1982. Isolation of Plasmid DNA from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Appl. Environ. Microbiol*, 43(2): 298-302.
- Tenriulo AE, Suryati, Parenrengi A, Rosmiat, 2001. Ekstraksi DNA Rumpuk Laut *Kappaphycus alvarezii* Dengan Metode Fenol Kloroform. *Marina Chimica Acta*, 2(2): 6-10.
- Thermoscientific, 2012. *Proteinase K (recombinant), PCR grade*. www.thermoscientificbio.com/dna-and-rna-modifying-enzymes/proteinase-k-recombinant-pcr-grade/. Diunduh tanggal 5 Januari 2015
- Walker GDC, 1972. Isolation of Circular DNA from Mitochondrial Fraction from Yeast. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 69(2):388-392.