

Efektivitas Isolasi DNA Bakteri *Escherichia coli* dengan Modifikasi Buffer Lisis *Spin Column*

Effectiveness of Escherichia coli DNA Isolation with Modified Spin Column Lysis Buffer

Fariska Amadea Julia, Khoirun Nisa, Lailatul Maghfiroh, Azza Irani Dwi Lestari,
Natasya Dwi Anjani, Lisa Lisdiana*

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya,
Jl. Ketintang, Ketintang, Kec. Gayungan, Kota Surabaya, 60231, Indonesia

*corresponding author, Email: lisalisdiana@unesa.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 12/09/2025

Disetujui : 30/06/2026

Abstract

DNA isolation is a crucial step in further research in various biotechnology and molecular research applications, including gene cloning, PCR analysis, and DNA sequencing. DNA isolation can be performed using a kit, one of which is a spin column kit. The use of a spin column kit in DNA isolation is more effective and efficient because the necessary materials and procedures for using the kit are available in one package, making the kit quicker and easier to use. However, when using the kit, sometimes one of the materials used, such as the lysis buffer, run out and require replacement materials to continue the DNA isolation process. So, it is necessary to prove that the replacement material for the Spin Column kit has the same results and quality as the Spin Column Kit. The purpose of this study was to determine the effectiveness of 20% SDS as a substitute for the spin column kit based on the evaluation of the quantity of DNA produced. The method was carried out according to the spin column kit procedure and modified the lysis buffer using 20% SDS. The results showed that the DNA concentration level from the SDS modification was higher (13.9 ng/ μ L) than that from the spin column kit (3 ng/ μ L). However, the purity of the DNA produced by the spin column kit and the modified SDS 20 % had the same value, namely approximately 1.8. DNA considered pure and with minimal protein contamination showed a purity value of 1.7-2.0. Thus, replacing the lysis buffer of the spin column kit with SDS 20 % can be an effective alternative to be implemented in the laboratory.

Key Words : DNA purity; *Escherichia coli*; Lysis buffer; Modification; SDS; Spin column

Abstrak

Isolasi DNA merupakan tahapan penting yang mendasari penelitian lanjut dalam berbagai aplikasi bioteknologi dan penelitian molekuler, termasuk kloning gen, analisis PCR, dan sekuensing DNA. Isolasi DNA dapat dilakukan menggunakan kit, salah satunya adalah kit *spin column*. Penggunaan kit *spin column* dalam isolasi DNA lebih efektif dan efisien karena bahan-bahan yang diperlukan dan prosedur penggunaan kit telah tersedia dalam satu paket, sehingga penggunaan kit lebih cepat dan mudah. Namun, pada saat menggunakan kit adakalanya bahan yang digunakan, seperti buffer lisis habis dan memerlukan bahan pengganti agar proses isolasi DNA tetap berjalan. Sehingga, diperlukan adanya pembuktian bahwa bahan pengganti dari kit *spin column* memiliki hasil dan kualitas yang sama dengan kit *spin column*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas dari SDS 20% sebagai pengganti pada kit *spin column* berdasarkan evaluasi kuantitas DNA yang dihasilkan. Metode dilakukan sesuai dengan prosedur kit *spin column* dan memodifikasi buffer lisis dengan menggunakan bahan SDS 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi DNA dari modifikasi SDS lebih tinggi (13,9 ng/ μ L) dibandingkan konsentrasi DNA dari kit *spin column* (3 ng/ μ L). Hal ini disebabkan karena SDS memiliki kemampuan yang kuat dalam melisis sel. Namun, tingkat kemurnian DNA hasil dari kit *spin column* dan modifikasi menggunakan SDS 20% memiliki nilai yang sama, yaitu sekitar 1,8. DNA yang dianggap murni dan minim kontaminasi protein menunjukkan nilai kemurnian 1,7-2,0. Dengan demikian, modifikasi buffer lisis pada kit *spin column* dengan SDS 20% dapat menjadi alternatif yang efektif untuk diterapkan dalam laboratorium.

Kata kunci : Buffer lisis; *Escherichia coli*; Kemurnian DNA; Modifikasi; SDS; *Spin column*

PENDAHULUAN

Isolasi DNA adalah tahap penting dalam berbagai aplikasi bioteknologi dan penelitian molekuler, termasuk kloning gen, analisis PCR, dan sekuensing DNA. Menurut Abras *et al.*, (2018), isolasi DNA merupakan suatu kegiatan memurnikan asam nukleat dan menghilangkan makromolekul pada sel yang dapat menghambat berlangsungnya

proses PCR. Salah satu mikroorganisme yang sering digunakan dalam penelitian genetika adalah bakteri *Escherichia coli* karena keberadaannya yang melimpah dan mudah dikultur di laboratorium. Menurut Rahayu *et al.* (2018) bakteri *E. coli* termasuk pada gram negatif. Hal tersebut juga dinyatakan oleh Prasetya *et al.* (2019) bahwa hasil

penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* termasuk gram negatif. Metode konvensional isolasi DNA seringkali melibatkan penggunaan buffer lisis dan teknik pemurnian yang bervariasi, dengan tujuan mendapatkan DNA berkualitas tinggi yang bebas dari kontaminan.

DNA berada di bagian inti sel, namun juga ada yang berada di dalam mitokondria. Peran DNA di dalam sel adalah sebagai pembawa sifat atau materi genetik yang nantinya diturunkan pada keturunan suatu organisme dan menyimpan informasi untuk proses sintesis protein (Azahra et al., 2025). Dengan mendapatkan DNA dari suatu sel akan dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut. DNA yang dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut harus memenuhi kriteria kualitatif dan kuantitatif (Dewanata & Mushlih, 2021). Pengujian DNA menggunakan metode kuantitatif dapat menggunakan nano spektrofotometer sehingga dapat diketahui kandungan DNA yang terkandung dalam zat yang diketahui memiliki DNA plasmid dalam larutan sampel atau komponen zat (Mollah et al., 2022). Sedangkan pengujian DNA secara kualitatif dapat dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Penggunaan elektroforesis gel agarosa dalam uji kualitatif DNA bertujuan untuk memvisualisasikan hasil DNA yang telah didapatkan setelah proses isolasi DNA sehingga dapat diperkirakan dan diketahui keberadaan serta ukuran fragmen DNA dalam bentuk pita-pita yang bermigrasi melalui gel dan dapat dilihat di bawah cahaya UV (Mahadi et al., 2024).

Metode isolasi DNA tradisional memiliki sifat yang efektif, namun seringkali memerlukan waktu lama dan langkah-langkah yang kompleks (Buchori et al., 2023). Salah satu inovasi dalam teknologi isolasi DNA adalah penggunaan kit *spin column*, yang menawarkan proses yang lebih cepat dan sederhana. Teknologi *spin column* menawarkan beberapa keunggulan, termasuk kemudahan penggunaan, kecepatan, dan kemampuan menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi. Isolasi DNA dengan menggunakan kit lebih praktis karena semua larutan yang diperlukan sudah disediakan dalam satu paket, sehingga menghemat waktu kerja (Sari et al., 2014). Namun dalam penggunaan kit dapat terjadi kemungkinan habisnya salah satu bahan misalnya buffer lisis. Selain itu, permasalahan lain juga dapat ditemui saat isolasi DNA dengan menggunakan kit adalah hasil yang kurang optimal. Oleh karena itu, diperlukan adanya alternatif bahan pengganti yang memiliki efektifitas sama atau lebih baik sehingga tahap isolasi DNA dapat dilakukan tanpa terjeda waktu yang lama untuk pemesanan kit baru dan memperoleh hasil yang lebih optimal.

Buffer lisis umumnya mengandung SDS dan NaOH. *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) merupakan bahan aktif deterjen yang berfungsi untuk memecah membran lipid, sedangkan NaOH membantu memecah dinding sel (Koonts, 2013). Secara

konvensional isolasi DNA dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya menggunakan metode CTAB/NaCL, metode SDS dan metode fenol kloroform (Fitriya et al., 2015). Buffer lisis yang umumnya digunakan pada metode konvensional kemungkinan dapat dikombinasikan dengan kit, namun terkait hal tersebut diketahui belum pernah dilakukan penelitian sebelumnya, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas isolasi DNA bakteri *E. coli* dengan menggunakan buffer lisis yang dimodifikasi pada sistem *spin column*. Fokus utama penelitian ini adalah untuk menentukan kombinasi buffer yang optimal untuk menghasilkan DNA dengan kemurnian dan konsentrasi tinggi dalam waktu yang lebih singkat dan dengan prosedur yang lebih sederhana. Adanya modifikasi ini diharapkan dapat meningkatkan efisiensi isolasi DNA, baik dari segi kemurnian maupun kuantitas, dibandingkan dengan metode konvensional. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam optimasi metode isolasi DNA, khususnya untuk aplikasi yang memerlukan DNA berkualitas tinggi dalam jumlah besar.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nano spektrofotometer (NanoDrop), hemositometer, autoklaf, inkubator, centrifuge mikro (Eppendorf), LAF, mikropipet dengan tip steril, *syringe*, jarum ose, tabung reaksi, cawan petri. Bahan yang digunakan terdiri atas bakteri *E. coli*, *Bacteria DNA Preparation Kit – Spin Columns-Based* (Jena Bioscience, Cat#PP-214S), *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 20%, *Nutrient Agar* (NA) (Merck Millipore, Cat#1.05450.0500), *Luria Bertani Broth* (LB) (Merck Millipore, Cat#1.10285.0500), akuades steril, buffer bawaan kit, serta reagen standar laboratorium.

Preparasi Sel

Inokulum bakteri diperoleh dengan merekultur bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan jarum ose dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, inokulum dipindahkan pada media *Luria Bertani Broth* (LB) sebanyak 300 ml. Inokulum pada media *Luria Bertani Broth* (LB) dibagi menjadi tiga bagian yaitu masing-masing 100 ml. Bagian pertama digunakan pada isolasi DNA menggunakan kit *spin column* standar, bagian kedua digunakan pada isolasi DNA dengan modifikasi buffer lisis menggunakan SDS 20%, dan bagian ketiga digunakan untuk menghitung kepadatan bakteri dengan standar McFarland.

Penghitungan Sel dengan Hemositometer

Kepadatan sel bakteri *E. coli* dihitung menggunakan hemositometer. Suspensi kultur yang telah homogen kemudian dimasukkan ke ruang

hitung hemositometer, dan jumlah sel diamati di bawah mikroskop cahaya. Data kepadatan sel ini digunakan sebagai acuan untuk menentukan volume kultur yang diproses pada tahap isolasi DNA. Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan mengambil 5 lapang pandang sehingga didapatkan total jumlah sel bakteri sebanyak 20×5 atau 100 sel pada kedalaman cairan di bawah hemositometer 0,1 mm. Menurut penelitian Green & Sambrook (2019), rumus umum yang digunakan adalah:

$$\text{Konsentrasi sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{jumlah rata-rata sel per kotak besar} \times \text{faktor pengenceran}}{\times 10^4}$$

Keterangan:

Angka 10^4 berasal dari konversi volume 0,1 mm³ ke 1 mL (1 mL = 1000 mm³, sehingga 1/0,1 mm³ = 10^4).

Isolasi DNA

DNA *E. coli* diisolasi menggunakan kit komersial. Kultur bakteri 500 µL dipanen melalui sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 g sehingga diperoleh pelet sel. Kemudian melalui tahap lisis sel menggunakan 300 µL buffer lisis dan 2 µL RNase untuk isolasi DNA dengan standar kit *spin column*. Sedangkan pada perlakuan modifikasi buffer lisis, larutan stok *sodium dodesil sulfat* (SDS) 20% ditambahkan sebanyak 15 µL dan 2 µL RNase pada pelet sel. Masing-masing campuran divortex selama 30-60 detik. Penambahan RNase A digunakan untuk menghilangkan RNA. Setelah itu, 8 µL proteinase K ditambahkan untuk mendegradasi protein. Sampel yang telah tercampur, diinkubasi selama 10 menit pada suhu 60 °C. Proses inkubasi dilakukan untuk memastikan sel benar-benar terpecah dan DNA dapat dilepaskan. Setelah itu, lisat dicampurkan dengan *binding buffer* sebanyak 300 µL sehingga DNA dapat berikatan dengan membran silika pada kolom spin. Tahap aktivasi kolom dilakukan dengan menempatkan kolom putar pada tabung pengumpul 2 ml dan menambahkan 100 µL buffer aktivasi ke dalam kolom putar. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi selama 30 detik pada 10.000 g dan membuang aliran keluar. Tahap pemurnian dilakukan melalui pencucian bertahap menggunakan *washing buffer* sebanyak 500 µL. Sedangkan DNA murni diperoleh kembali melalui tahap elusi dengan buffer elusi sebanyak 40 - 50 µL. DNA hasil isolasi kemudian disimpan untuk analisis lebih lanjut.

Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (The Thermo Scientific NanoDrop 2000). Instrumen terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan blanko berupa reagen elusi DNA. Sampel DNA sebanyak 1–

2 µL ditetaskan pada sensor nano spektrofotometer. kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Absorbansi pada 260 nm digunakan untuk menentukan konsentrasi DNA, rasio absorbansi 260/280 digunakan untuk menilai tingkat kemurnian DNA, dan rasio absorbansi 260/230 digunakan untuk mengetahui kontaminasi senyawa organik. Pengukuran diulangi beberapa kali untuk memastikan akurasi hasil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang dapat hidup dalam media dengan nutrisi minimal (Cesar *et al.*, 2022). Meskipun *E. coli* sering dikaitkan dengan sifat patogen, ada juga jenis bakteri *E. coli* yang bermanfaat. *E. coli* sering digunakan sebagai bakteri percobaan fundamental untuk mengembangkan ilmu dalam bidang biologi (Ruiz & Silhavy, 2022). Bakteri *E. coli* yang digunakan untuk isolasi DNA direkultur terlebih dahulu pada media *Nutrien Agar* (NA) dan *Luria-Bertani* (LB). Hal ini, bertujuan agar bakteri dapat tumbuh dan berkembang biak secara optimal. Media NA seringkali digunakan untuk menumbuhkan bakteri karena media NA secara umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri, seperti *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) (Astriani & Feladita, 2022). Media *Luria-Bertani* (LB) cair memiliki kandungan ragi yang berfungsi sebagai sumber vitamin, nitrogen organik, maupun karbon untuk keberlangsungan hidup bakteri (Nora *et al.*, 2017). Selain itu, media LB juga mengandung NaCl dan sumber vitamin lain untuk menjaga keseimbangan isotonik pada media.

Hasil perhitungan jumlah sel bakteri menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel pada kotak besar (1 mm² × 0,1 mm) adalah 100 sel. Perhitungan dilakukan menggunakan sampel hasil pengenceran seri hingga 10^{-8} , sehingga faktor koreksi yang digunakan adalah 10^8 . Dengan menerapkan rumus standar konsentrasi sel menurut Green & Sambrook (2019), diperoleh konsentrasi sel pada suspensi awal sebesar 1×10^{14} sel/mL. Nilai ini menunjukkan bahwa kepadatan sel bakteri cukup tinggi dan sesuai dengan karakteristik kultur yang digunakan.

Nilai tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *E. coli* dalam media LB cukup optimal setelah proses inkubasi selama 24 jam. Kondisi ini penting karena jumlah sel yang mencukupi merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan dalam proses isolasi DNA.

Berdasarkan hasil uji kuantitatif kemurnian isolasi DNA menggunakan alat nano spektrofotometer dapat diketahui sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil uji kuantitatif isolasi DNA bakteri *E. coli*

Buffer Lisis	Konsentrasi DNA(ng/μL)	A260 (Abs)	A280 (Abs)	260/280	260/230
SDS 20%	13,9	0,277	0,152	1,82	0,61
KIT	3,0	0,059	0,033	1,77	0,84

Kualitas DNA yang diisolasi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk teknik ekstraksi, kondisi lingkungan, dan metode penyimpanan (Sato, 2022). Jika jumlah bakteri terlalu sedikit, maka kemungkinan DNA yang dihasilkan juga akan sangat rendah atau bahkan tidak terdeteksi oleh nano spektrofotometer.

Isolasi DNA merupakan proses untuk pemurnian DNA dari organel sel baik secara fisik maupun kimia (Utama *et al.*, 2023). Menurut Lio & Sugireng (2019), prinsip dasar isolasi DNA melibatkan lima langkah utama diantaranya isolasi atau pemanenan sel, lisis sel, penghilangan protein dan RNA (ekstraksi), purifikasi DNA, dan presipitasi. Proses ini sering dilakukan dengan metode kolom sentrifugal (*spin column*), dimana membran silika digunakan untuk menangkap DNA yang telah dilepaskan dari sel. Penggunaan kit dengan reagen khusus dalam metode ini dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas DNA yang dihasilkan (Sundari & Priadi, 2019). Pada tahap lisis, salah satu tabung dimodifikasi dengan penambahan SDS 20%. Penambahan SDS 20% memiliki peran penting dalam proses penghancuran membran sel *E. coli*, sehingga memudahkan keluarnya DNA untuk diisolasi. SDS merupakan larutan anion detergen yang dapat melarutkan lipid yang menyusun membran (Murtiyaningsih, 2017). Larutan SDS 20% merupakan larutan stok yang umum digunakan sebagai buffer lisis pada tahap ekstraksi di eksperimen isolasi DNA. Dengan konsentrasi SDS yang tinggi dapat efektif untuk menghancurkan membran luar dan membran plasma sel *E. coli*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kamaliah (2017) bahwa proses lisis sel dengan menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) dapat mengikat protein dan lemak pada membran sel, sehingga membuka membran sel dan memungkinkan seluruh isi sel keluar.

Berdasarkan data pada **Tabel 1.** isolasi DNA dengan modifikasi SDS 20% menghasilkan konsentrasi DNA yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode standar menggunakan kit. Meskipun konsentrasi DNA keduanya masih berada dalam kisaran ideal, modifikasi SDS 20% memiliki tingkat kemurnian yang sebanding dengan kit. Nilai kemurnian tersebut menunjukkan hasil bahwa kedua metode mampu menghasilkan DNA yang relatif murni, namun penggunaan SDS 20% lebih unggul baik dari segi kemurnian maupun jumlah DNA yang berhasil diisolasi. Hal ini menunjukkan bahwa modifikasi dengan SDS 20% cukup efektif dan dapat dijadikan alternatif saat buffer dari kit habis atau

hemat biaya. Tingkat kemurnian DNA hasil dari modifikasi SDS 20% sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat kemurnian DNA hasil dari penggunaan buffer lisis dari kit.

Molekul DNA yang telah diisolasi selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan nano spektrofotometer untuk memperoleh nilai konsentrasi dan kemurnian isolasi bakteri *E. coli*. Nilai konsentrasi diperoleh dengan mengalikan nilai A260 dengan 50 dan faktor pengencer (Yulianti *et al.*, 2024). Sehingga, nilai konsentrasi DNA yang diperoleh dari modifikasi SDS 20% yaitu 13,9 ng/μL sedangkan penggunaan buffer lisis dari kit *spin column* sebesar 3 ng/μL. Nilai konsentrasi dari modifikasi SDS 20% lebih tinggi daripada penggunaan buffer lisis dari kit *spin column*. Hal ini disebabkan karena SDS memiliki kemampuan yang kuat dalam melisis sel. Komposisi buffer lisis berbeda dengan reagen yang digunakan untuk mengisolasi atau mengendapkan DNA (Xia *et al.*, 2019). Sehingga hasil konsentrasi DNA yang diperoleh juga berbeda.

Nilai kemurnian yang diperoleh berdasarkan nilai absorbansi 260/280 pada nano spektrofotometer. Nilai kemurnian yang diperoleh dari modifikasi SDS 20% dan buffer lisis pada kit *spin column* memiliki nilai pada rentang yang sama yaitu sekitar 1,8. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Dewanta & Mushlih (2021) bahwa hasil uji kuantitatif menggunakan nano spektrofotometer menghasilkan nilai hasil kemurnian berkisar 1,835. DNA yang dianggap murni dan minim kontaminasi protein menunjukkan nilai kemurnian 1,7-2,0 sedangkan nilai kemurnian DNA yang berada di bawah 1,7 mengindikasikan bahwa DNA terkontaminasi oleh protein dan fenol (Versmessen *et al.*, 2024).

Perbandingan nilai absorbansi 260/230 dari hasil isolasi DNA menggunakan modifikasi SDS 20% dan buffer lisis dari kit *spin column* menunjukkan angka di bawah kisaran 2. Hal ini menandakan bahwa hasil isolasi DNA tersebut mengalami kontaminasi oleh senyawa organik seperti karbohidrat, fenol, atau garam (Yulianti *et al.*, 2024). Nilai absorbansi 260/230 yang berada di kisaran 2-2,2 menunjukkan bahwa DNA dapat dikategorikan sebagai murni dengan tingkat kemurnian optimal.

Kemampuan SDS 20% dalam melisis sel dan melepaskan DNA, dapat menjadikan SDS sebagai alternatif untuk menggantikan buffer lisis kit jika salah satu komponen dari kit, dalam hal ini buffer lisis habis dalam proses isolasi DNA dari bakteri *E.*

coli atau bakteri dari kelompok gram negatif. Data menunjukkan bahwa isolasi menggunakan SDS 20 % menghasilkan kemurnian DNA yang setara dengan buffer lisis pada kit *spin column* (rasio absorbansi 260/280 rentang 1,8) dan konsentrasi DNA yang lebih tinggi. Namun, rasio absorbansi 260/230 yang rendah mengindikasikan adanya kontaminasi senyawa organik, sehingga diperlukan langkah pencucian dan pemurnian tambahan untuk meningkatkan kualitas DNA. Agar DNA yang diperoleh memenuhi standar untuk analisis lanjutan, optimasi protokol dan validasi hasil isolasi harus dilakukan setelah penggunaan SDS 20%. SDS 20% dapat digunakan sebagai pengganti kit buffer lisis yang efisien dan hemat biaya jika dilakukan dengan prosedur yang tepat.

Pada penelitian ini analisis data masih terbatas pada data kuantitatif yang berupa tingkat kemurnian dan konsentrasi total DNA yang diperoleh dari setiap perlakuan, namun belum ada konfirmasi dengan data kualitatif yang diperoleh dari visualisasi pada gel agarose maupun berdasarkan hasil amplifikasi yang dapat memverifikasi akurasi data kuantitatif tersebut. Oleh karena itu, pada penelitian serupa, disarankan untuk melakukan analisis kualitatif dengan metode elektroforesis maupun PCR untuk dapat memperkuat klaim kemampuan suatu bahan sebagai alternatif pengganti buffer lisis dari suatu kit isolasi.

SIMPULAN

Hasil penelitian yang telah didapatkan menunjukkan bahwa penggunaan modifikasi pada buffer lisis dengan SDS 20% pada isolasi DNA bakteri *E. coli* menghasilkan nilai kemurnian yang relatif sama pada nilai absorbansi 260/280 yaitu 1,8. Selain itu, nilai konsentrasi DNA yang didapatkan menunjukkan bahwa penggunaan modifikasi pada buffer lisis dengan SDS 20% pada isolasi DNA *E. coli* memiliki nilai yang lebih tinggi yaitu 13,9 ng/μL dibandingkan penggunaan buffer lisis kit *spin column* yaitu 3 ng/μL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penggunaan buffer lisis SDS 20% dinilai efektif dalam rangkaian proses isolasi DNA sehingga dapat menjadi salah satu alternatif buffer lisis pengganti yang efektif, efisien, dan hemat biaya ketika buffer lisis kit habis atau tidak tersedia.

DAFTAR REFERENSI

- Abras, A., Ballart, C., Llovet, T., Roig, C., Gutie, C., Posada, E., Tebar, S., Berenguer, P., Schijman, A. G., Ga'llego, M., & Muñoz, C. 2018. Introducing automation to the molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection : A comparative study of sample treatments , DNA extraction methods and real-time PCR assays. *PLOS ONE*, pp.1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195738>
- Astriani, R., & Feladita, N. 2022. Perhitungan Angka Lempeng Total (Alt) Bakteri Pada Jamu Gendong Beras Kencur Yang Beredar Di Pasar Tradisional Way Kandis Dan Pasar Tempel Way Halim. *Jurnal Analisis Farmasi*, 7(2), pp.175–184.
- Azahra, A. P. A., Listanto, P., Ramadhani, K. N., Indriansyah, T. A. G., Khairunnisa, L. A., & Arini, L. D. D. A. 2025. Peran Asam Nukleat dalam Proses Sintesis Protein : Analisis Mekanisme Universitas Duta Bangsa Surakarta , Indonesia dihasilkan sesuai dengan kebutuhan sel dan organisme secara keseluruhan . *Pengaturan ekspresi*. 3(2), pp.15–24.
- Buchori, A., Firmansah, H., Anika, M., Ratnawati, S., Ulfa, U. T., & Zendrato, Y. 2023. Komparasi Metode Ekstraksi DNA Menggunakan Daun Padi: Review. *Agriculture and Biological Technology*. 1(1), pp.40–50.
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. 2021. Differences in DNA purity test using UV-Vis spectrophotometer and nanodrop spectrophotometer in type 2 diabetes mellitus patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, pp.10-21070.
- 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), pp.87–92.
- Green, M., & Sambrook, J. 2019. Estimation of Cell Number by Hemocytometry Counting. *Cold Spring Harbor protocols*, 2019 11, pdb.prot097980 . <https://doi.org/10.1101/pdb.prot097980>.
- Kamaliah. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi DNA Phenol-Chloroform Dan Kit Extracxtion Pasa Sapi Aceh Dan Sapi Madura. *Jurnal Biotik*. 5(1), pp.60–65.
- Koontz, Laura. 2013. Chapter Two - Explanatory Chapter: How Plasmid Preparation Kits Work. . 529, pp.23-28.
- Lio, T. M. P., & Sugireng. 2019. Molecular Detection of Glucokinase Genes in Adolescents. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*. 4(2), pp.183–189.
- Mahadi, I., Sayuti, I., & Nursal. 2024. Ekstraksi DNA Nibung (*Oncosperma tigillarum* (Jack) Ridl.) Menggunakan Beberapa Jenis Buffer Terhadap Kualitas Genomik DNA. *Jurnal Biologi Papua*. 16(2), pp.129–138. <https://doi.org/10.31957/jbp.3780>
- Mollah, A., Ashan, M. A., & Khatimah, A. H. 2022. Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Porang (*Amorphophallus Muelleri Blume*) pada Beberapa Kawasan di Sulawesi Selatan. *AgriTechno*. 15(01), pp.1–7.

- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*). *Jurnal UNMUH Jember*. 15 (1).
- Nora, A., Ratnaningsih, E., & Natalia, D. 2017. Identifikasi dan isolasi *haloalkana dehalogenase* dari *pseudomonas aeruginosa* strain lokal. *IJOB Volume*, 1(1).
- Prasetya, Y. A., Winarsih, I. Y., Pratiwi, K. A., Hartono, M. C., & Rochimah, D. N. 2019. Deteksi Fenotipik *Escherichia coli* Penghasil Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) pada Sampel Makanan di Krian Sidoarjo. *Life Science*, 8(1), pp.75-8
- Rohmah, I. N., & Alif, T. 2021. Uji Pengembangan Spora Entomopatogen Bunga *Entomopatogen Lecanicillium lecanii* Menggunakan Haemocytometer. *Jurnal Matematika & Sains*, 1(2), pp.143–150.
- Ruiz, N., & Silhavy, T. J. 2022. How *Escherichia coli* Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology. *Journal of Bacteriology*, 204(9). <https://doi.org/10.1128/jb.00230-22>
- Sari, S. K., Mazieda, M. N., Listyorini, D., & Sulasmi, E. S. 2014. Optimization Of DNA Isolation And Purification Technique From Chili Pepper (*Capsicum Frutescens* Cv. Cakara Hijau) Using Genomic DNA Mini Kit (Plant) Geneaid. In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning* (Vol. 11, No. 1, pp. 65-70).
- Sato, Y. 2022. DNA extraction from mummified tissues. In *Molecular analyses* (1st ed., pp. 9–16). *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/9781003247432-2>
- Sundari, S., & Priadi, B. 2019. Teknik isolasi dan elektroforesis dna ikan tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17 (2), 2019, pp.87-90 .
- Utama, Y. P., Achyar, A., & Wahyuni, I. 2023. Perbandingan Metoda Ekstraksi DNA Saliva. *Prosiding SEMNAS BIO*, 3(1), pp.1259–1265.
- Versmessen, N., Simaey, L. Van, Negash, A. A., Vandekerckhove, M., Hulpiau, P., Vaneechoutte, M., & Cools, P. 2024. Comparison of DeNovix , NanoDrop and Qubit for DNA quantification and impurity detection of bacterial DNA extracts. *PLOS ONE*. pp.1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305650>
- Xia, Y., Chen, F., Du, Y., Liu, C., Bu, G., Xin, Y., & Liu, B. 2019. A modified SDS-based DNA extraction method from raw soybean. *Bioscience Reports*, 39(2), pp.1–10.
- <https://doi.org/10.1042/BSR20182271>
- Yulianti, S., Islami, R. Z., & Pramudyawardani, M. E. F. 2024. Analisis konsentrasi dan kemurnian Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) dari rumput pakan ternak. *AGRIVET*. 12, pp.167–179.