

## Optimasi Isolasi DNA Genom *Candida albicans* dengan Metode Litium Karbonat

\*Fini Ainun Qolbi Wasdili<sup>1)</sup>, Aghes Silfia Putri<sup>1)</sup>, Sitti Romlah<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia.

\*Correspondence Author: Fini Ainun Qolbi Wasdili, [fini.ainun@gmail.com](mailto:fini.ainun@gmail.com), Cimahi, Indonesia

### Abstrak

*Candida albicans* sebagai salah satu spesies jamur yang patogen, berperan terhadap 50% dari seluruh infeksi jamur akibat genus *Candida*. Isolasi DNA genom merupakan langkah awal dan sangat menentukan dalam studi genetika dan molekuler suatu spesies. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari dua lapis yang memungkinkan keberhasilan isolasi DNA genom rendah. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi isolasi DNA genom *Candida albicans* dengan metode litium karbonat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan variasi konsentrasi litium karbonat. Hasil isolasi metode litium karbonat tidak ditemukan pita pada hasil elektroforesis, sedangkan hasil kemurnian isolat kurang dari 1.8 sebanyak 9 sampel dan 3 sampel memiliki kemurniaan yang baik yaitu 1.8-2. Konsentrasi DNA terendah yaitu 0.95µg/ml dan tertinggi yaitu 57.5µg/ml. Simpulan, litium karbonat dengan metode optimasi yang digunakan tidak dapat mengisolasi DNA genom *Candida albicans*, namun bisa dicoba dengan litium klorida sebagai alternatif untuk isolasi DNA.

**Kata Kunci :** Litium karbonat, Optimasi, Isolasi, *Candida albicans*

### Abstract

*Candida albicans* as one of the pathogenic species, contributes to 50% of all fungal infections caused by the genus *Candida*. Isolation of genomic DNA is the first and crucial step in the genetic and molecular study of a species. The cell wall of *Candida albicans* consists of two layers which supports the successful isolation of low DNA genomes. This study aims to optimize the isolation of *Candida albicans* genomic DNA using the lithium carbonate method. The method used in this study is an experimental method using variations in the concentration of lithium carbonate. The results of the isolation of the lithium carbonate method did not find bands on the electrophoresis results, while the results of the purity of the isolate were less than 1.8 as many as 9 samples and 3 samples had good purity, namely 1.8-2. The lowest DNA concentration was 0.95µg/ml and the highest was 57.5µg/ml. In conclusion, lithium carbonate with the optimization method used cannot isolate *Candida albicans* genomic DNA, but it can be tried with lithium chloride as an alternative for DNA isolation.

**Keyword :** Lithium Carbonate, Optimization, Isolation, *Candida albicans*

## PENDAHULUAN

*Candida albicans* dianggap sebagai spesies yang patogen dan menjadi penyebab terbanyak kandidiasis. Kandidiasis ialah penyakit jamur yang menyerang kulit, rambut, kuku, selaput lendir dan organ dalam yang disebabkan oleh berbagai genus *Candida*. Kandidiasis merupakan penyakit akut atau sub akut spesies yang banyak ditemukan pada manusia ialah *Candida albicans* (Indrayati & Sari, 2018). *Candida albicans* adalah organisme komensal manusia yang ditemukan di saluran pencernaan dan lainnya permukaan mukosa dari mayoritas populasi. Dapat menyebabkan infeksi mukosa superfisial pada individu imunokompeten, tetapi di antara pasien immunocompromised atau lemah, dapat bertanggung jawab untuk penyakit sistemik yang mengancam jiwa (Kornitzer, 2019).

Isolasi DNA genom merupakan langkah awal dan sangat menentukan dalam studi genetika dan molekuler suatu spesies. Proses tersebut membutuhkan preparasi sampel untuk mendapatkan DNA dengan kualitas yang baik karena akan digunakan untuk berbagai analisis molekuler maupun manipulasi genetik. Analisis genom dilakukan untuk berbagai sampel dan untuk tiap sampel dibutuhkan optimasi agar diperoleh DNA yang baik dalam jumlah besar (Fernih & Pujiyanto, 2013).

Isolasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik konvensional maupun menggunakan kit. Ekstraksi DNA secara konvensional bisa dilakukan antara lain dengan metode CTAB/NaCl (Fitriya *et al.*, 2015). DNA berkualitas tinggi yang akan didapat dalam suatu ekstraksi merupakan satu kaidah dasar yang harus dipenuhi dalam studi molekuler, Ada tiga langkah utama dalam ekstraksi DNA, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Syafaruddin & Santoso, 2020).

Kesulitan yang dihadapi dalam isolasi DNA pada *Candida albicans* yaitu dinding sel adalah hambatan utama untuk lisis ragi yang cepat dan mudah. Metode konvensional untuk persiapan DNA genom dari sel ragi dapat menggunakan metode enzimatik, yang umumnya diikuti dengan lisis sel dengan penambahan deterjen. Isolasi DNA genom dengan fenol-kloroform, digunakan ketika menganalisis jumlah sampel yang besar, tetapi metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dan relatif mahal. Metode lain yang dapat digunakan

dengan cara siklus pembekuan-pencairan berulang dalam buffer yang mengandung Triton X-100 dan SDS, diikuti dengan isolasi DNA genom dengan kloroform meskipun metode ini jauh lebih cepat daripada metode preparasi DNA genom konvensional, metode ini memerlukan transfer sampel ke tabung reaksi baru setelah ekstraksi kloroform, yang memperlambat protokol dan membuatnya tidak nyaman untuk penanganan sejumlah besar sampel. Atau, DNA genom dapat dibuat dalam satu tabung dengan pemeriksaan SDS sederhana namun, hasil DNA genom oleh protokol ini relatif rendah dan hasilnya tidak dapat direproduksi dengan baik (Looke *et al.*, 2018).

Penelitian Marko, Kestri & Arnold (2018) dilakukan penelitian isolasi DNA genom dari ragi menggunakan metode Lithium asetat. Protokol melibatkan lisis koloni ragi atau sel dari kultur cair dalam larutan lithium asetat (LiOAc)-SDS dan pengendapan DNA selanjutnya dengan etanol. Sekitar 100 nanogram DNA genomik total dapat diekstraksi dari  $1 \times 10^7$  sel (Lööke *et al.*, 2011). Kelebihan dari metode ini adalah metode ini tidak memerlukan enzim, bahan kimia berbahaya, atau suhu ekstrim dan sangat kuat untuk analisis sejumlah besar sampel. DNA dapat diekstraksi secara efisien (Lööke *et al.*, 2011).

Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi metode lithium asetat yang dimodifikasi dengan lithium karbonat untuk metode isolasi DNA pada *Candida albicans*. Lithium karbonat, senyawa anorganik dengan rumus kimia  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ , adalah kristal monoklinik tidak berwarna atau bubuk putih. Kepadatan  $2.11\text{g/cm}^3$ , larut dalam asam encer, sedikit larut dalam air, kelarutan dalam air dingin lebih besar dari air panas, tidak larut dalam alkohol dan aseton (Yolanda & Harun, 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut, banyaknya pemanfaatan garam lithium yang digunakan untuk isolasi DNA maka peneliti ingin melakukan optimasi dari penggunaan lithium karbonat dalam isolasi DNA genom pada *Candida albicans*.

## **METODE PELAKSANAAN**

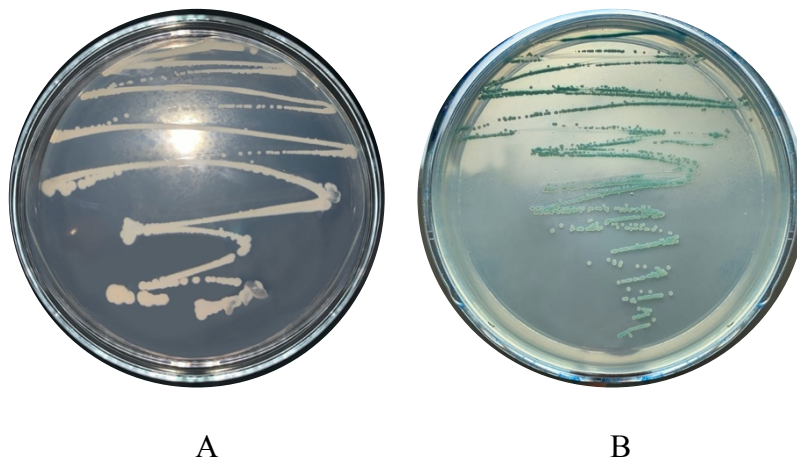
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Prodi TLM D-3 Fitkes UNJANI. Populasi dalam penelitian ini adalah strain *Candida albicans* yang ada di laboratorium mikrobiologi Prodi TLM D-3 Fitkes UNJANI. Sampel dalam penelitian ini yaitu *Candida albicans* yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi prodi TLM D3 UNJANI dan sudah

dilakukan uji konfirmasi dengan uji mikrobiologi. Uji mikrobiologi yang dilakukan yaitu dengan melakukan kultur pada media PDA, pewarnaan Gram, kultur pada media *Chrom agar*. Setelah strain *Candida albicans* terkonfirmasi benar dilanjutkan dengan metode optimasi isolasi dan hasil isolasi dikonfirmasi dengan menggunakan elektroforesis gel agarose dan mikrospektrofotometer. Metode isolasi ini dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi litium karbonat berbeda yaitu 0,8%, 1,29% dan 3,7%, penentuan konsentrasi berdasarkan pada kelarutan litium karbonat. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 50 µl litium karbonat dan 50µl SDS 1% untuk disuspensikan dengan 1 koloni *Candida albicans* yang berbeda, proses pemanasan dengan 90°C selama 30 menit elusi yang ditambahkan 100µl TE buffer dan digunakan 0,5% agarose untuk elektroforesis.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

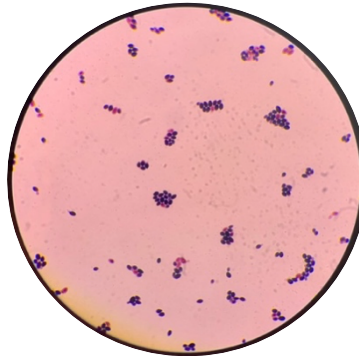
### Hasil

Berdasarkan data hasil uji konfirmasi strain *Candida albicans* pada media PDA dan *Chromagar* dapat dilihat pada Gambar 1, bahwa koloni berwarna hijau menunjukkan spesies *Candida albicans* (Gambar 1B):



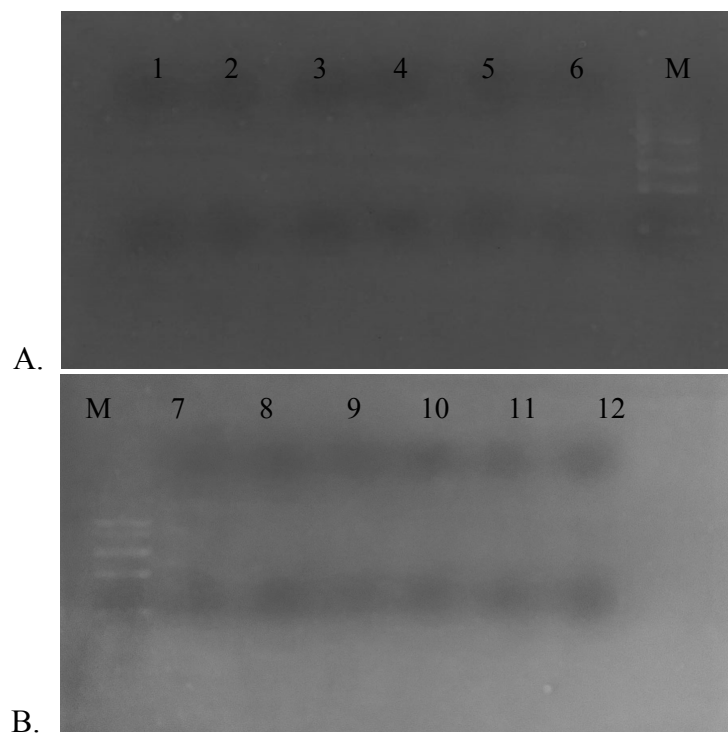
**Gambar 1. Kultur strain *Candida albicans* pada media PDA (A). Kultur strain *Candida albicans* pada media *Chrom agar* (B)**

Hasil pewarnaan Gram strain *Candida albicans* dapat dilihat morfologi berbentuk oval dengan ukuran 2-5 x 3-6  $\mu\text{m}$  pada Gambar 2, sebagai berikut :



**Gambar 2. Pewarnaan Gram strain *Candida albicans***

Berdasarkan hasil konfirmasi isolasi DNA genom *Candida albicans* dengan elektroforesis agarose diperoleh hasil sebagai berikut pada Gambar 3:



**Gambar 3. Elektroferogram Isolat DNA. A. Kode sampel 1-6; B. Kode sampel 7-12; M : Marker 1Kb**

Hasil pengamatan dibawah UV Transiluminator diketahui tidak terdapat pita DNA genom hasil optimasi isolasi, kemudian dilakukan penentuan kemurnian dari larutan dan konsentrasi isolat DNA menggunakan mikrospektrofotometer.

**Tabel 1.**

**Data Kemurnian dan Konsentrasi Isolat DNA Genom *Candida albicans***

Kode sampel	Kemurnian Isolat	Konsentrasi Isolat ( $\mu\text{g/ml}$ )
1	2.0	2.15
2	1.2	2.75
3	1.8	5.00
4	1.6	2.20
5	1.1	0.95
6	1.7	57.5
7	1.6	3.55
8	1.6	2.70
9	1.1	7.70
10	1.8	2.05
11	1.6	2.80
12	1.7	2.75

Kode sampel 1-4 merupakan isolasi DNA genom dengan menggunakan litium karbonat dengan konsentrasi 0.8%, kode sampel 5-8 menggunakan litium karbonat dengan konsentrasi 1.29% dan 7-12 menggunakan litium karbonat dengan konsentrasi 3.7%.

## **Pembahasan**

Ekstraksi DNA merupakan tahapan penting dalam teknik molekuler. Ekstraksi DNA diperoleh dengan cara merusak atau memecahkan dinding sel, sehingga DNA keluar dari dalam sel. Ekstraksi DNA merupakan proses pemisahan DNA dari komponen sel lainnya seperti protein, karbohidrat, lemak dan lain lain. Ekstraksi DNA terdiri dari tiga tahap utama yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari komponen lainnya serta pemurnian DNA. Pemecahan sel atau lisis pada proses ekstraksi sel bertujuan untuk menghancurkan membran dan dinding sel sehingga bagian dalam sel dapat keluar. Selanjutnya tahap pemisahan DNA dari makromolekul lain seperti protein, sebagian kecil RNA, lipid dan polisakarida. Tahap terakhir ialah pemurnian DNA. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan residu dari zat yang digunakan pada tahap lisis dan pemisahan DNA (Hutami et al., 2018).

Metode isolasi yang banyak dijual saat ini adalah isolasi dengan metode spin kolom, yang memiliki kelebihan dalam kemudahan proses isolasi tetapi harganya relatif mahal. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah isolasi metode lithium karbonat dimana metode tersebut merupakan modifikasi dari penelitian Marko (2011) yang melakukan isolasi DNA pada *Candida albicans* dengan metode lithium asetat, karena litium asetat (LiOAc) umumnya digunakan dalam protokol transformasi ragi untuk melemahkan dinding sel sehingga DNA berhasil diisolasi. Konsentrasi litium karbonat yang digunakan didasarkan pada kelarutan litium karbonat dalam air. Garam litium karbonat termasuk yang sulit larut dalam air sehingga konsentrasi yang digunakan tidak besar. Hasil optimasi isolasi DNA genom *Candida albicans* setelah dikonfirmasi dengan menggunakan elektroforesis agarose tidak terlihat pita DNA genom.

Pengujian kemurnian dan konsentrasi tetap dilakukan dengan spektrofotometer dari semua sampel dengan total sampel 12 dilakukan uji kemurnian, dimana didapatkan hasil kemurniaan dan konsentrasi seperti yang tercantum pada Tabel.1 didapatkan hasil kemurniaan rendah dengan hasil kurang dari 1,8 sebanyak 9 sampel, sedangkan 3 sampel lain didapatkan kemurniaan yang baik yaitu 1,8-2. Kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan, kemurnian larutan tersebut dapat dilihat dengan membagi nilai A260 dengan A280. Alat tersebut pada prinsipnya adalah menghitung perbedaan penyerapan cahaya UV dimana pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm karena DNA mengandung basa purin dan pirimidin yang mampu menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 260 nm, sedang kontaminan protein atau fenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm (Dayanti et al., 2012). Molekul DNA dikatakan murni jika rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8 hingga 2,0. Sedangkan jika rasio A260 dibagi dengan A280 lebih kecil dari 1,8 menunjukkan adanya kontaminasi yang disebabkan oleh protein pada hasil isolasi. Selain itu, jika rasio A260 dibagi dengan A280 lebih dari 2,0 ini dimungkinkan terkontaminasi oleh RNA (Ratnasari & Faridah, 2019). Pada hasil kemurnian, rasio yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat DNA masih banyak mengandung kontaminasi protein. Kontaminasi protein bisa disebabkan karena dinding sel *Candida albicans* belum lisis sempurna. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari struktur 2 lapis yang terdiri dari kerangka glukukan-kitin dan rantainya membentuk struktur ikatan hidrogen antiparalel yang erat, 1,6-glukan yang ada pada dinding sel menghubungkan dinding sel bagian luar dan dinding sel bagian dalam serta bertindak

sebagai molekul penghubung yang mengikat protein dinding sel melalui Protein Glikosilfosfatidil Inositol (GPI) (Garcia-Rubio et al., 2020).

Hasil uji kuantitatif konsentrasi isolat sampel DNA pada Tabel.1 dengan nilai terendah 0.95 µg/ml sedangkan nilai tertinggi 57.5 µg/ml. Untuk hasil yang kurang dari 57.5 µg/ml tidak memenuhi syarat untuk dilakukan proses selanjutnya karena untuk dapat dilakukan amplifikasi, konsentrasi minimal sampel adalah 25 µg/ml atau setara dengan 25 ng/µL (Syahfitri et al., 2017). Hasil konsentrasi isolat DNA yang tinggi 57.5 µg/ml tidak sesuai dengan hasil konfirmasi elektroforesis karena seharusnya pada hasil elektroforesis terdapat pita DNA, hal tersebut bisa disebabkan absorban yang terukur tidak hanya dari DNA saja tetapi juga ada serapan yang disebabkan oleh reagen yang digunakan.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian optimasi isolasi DNA pada *Candida albicans* metode lithium karbonat diperoleh kesimpulan bahwa litium karbonat dengan metode optimasi yang digunakan tidak dapat mengisolasi DNA genom *Candida albicans*.

## REFERENSI

- Dayanti, F. G., Djuminar, A., Dermawan, A., & Tantan, A. (2012). Perbandingan Nilai Pengukuran Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA *Salmonella typhi* Menggunakan Metode Boiling, Naoh, Kit komersial. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(1), 350–357.
- Ferniah, R. S., & Pujiyanto, S. (2013). Optimasi Isolasi DNA Cabai (*Capsicum annuum* L.) Berdasar Perbedaan Kualitas dan Kuantitas Daun serta Teknik Penggerusan. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 15(1), 14. <https://doi.org/10.14710/bioma.15.1.14-19>
- 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: Berkala Ilmiah Biologi*, 4(1), 87–92.
- Garcia-Rubio, R., de Oliveira, H. C., Rivera, J., & Trevijano-Contador, N. (2020). The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species. *Frontiers in Microbiology*, 10(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02993>



- Hutami, R., Bisyrri, H., Sukarno, S., Nuraini, H., & Ranasasmita, R. (2018). Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Jurnal Agroindustri Halal*, 4(2), 209–216. <https://doi.org/10.30997/jah.v4i2.1409>
- Kornitzer, D. (2019). Regulation of *Candida albicans* hyphal morphogenesis by endogenous signals. *Journal of Fungi*, 5(1), 1–15.
- Löoke, M., Kristjuhan, K., & Kristjuhan, A. (2011). Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications. *BioTechniques*, 50(5), 325–328. <https://doi.org/10.2144/000113672>
- Ratnasari, Y. A., & Faridah, I. N. (2019). Optimasi Metode Isolasi Dna Sampel Fta Cards Menggunakan Purelink® Genomic Dna Kits Dan Chelex-100 Optimization of Fta Cards Sample Dna Isolation Method Using Purelink® Genomic Dna Kits and. *Bachelor Thesis, 1*. <http://eprints.uad.ac.id/id/eprint/14764>
- Syafaruddin, S., & Santoso, T. J. (2020). Optimasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA yang Efisien dan Efektif pada Kemiri Sunan (*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(1), 11. <https://doi.org/10.21082/jlitri.v17n1.2011.11-17>
- Syahfitri, A., Staf, H., Program, P., & Agroekoteknologi, S. (2017). Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *Animal Science and Agronomy Panca Budi*, 2.
- Yolanda, T., & Harun, M. (2020). *Pra Rancangan Pabrik Pembuatan Litium Karbonat Kapasitas 44.000 ton/Tahun*.