

**ANALISIS KOMPARATIF METODE ISOLASI DNA: EVALUASI
KUALITAS, EFISIENSI, DAN KESESUAIAN APLIKASI**
*Comparative Analysis of DNA Isolation Methods: Evaluation of Quality, Efficiency,
and Application Suitability*

**Putu Widya Indra Astuti¹, Luh Putu Trisna Darmayanti¹, Sayi Hatiningsih¹
dan I Putu Suparthana^{2*}**

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Jalan Raya
Kampus Unud, Jimbaran, Badung, Bali, 80361

²Program Studi Magister Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Jalan
PB Sudirman, Denpasar-Bali, 80115

Diterima 10 Juni 2025 / Disetujui 24 Juni 2025

ABSTRAK

Isolasi DNA merupakan tahap awal yang krusial dalam analisis biologi molekuler karena kualitas DNA yang dihasilkan akan menentukan keberhasilan proses lanjutan seperti polymerase chain reaction (PCR) dan sekuensing. Berbagai metode isolasi DNA telah dikembangkan, mulai dari metode konvensional seperti fenol-kloroform dan CTAB hingga metode modern berbasis kolom silika dan magnetic beads. Masing-masing metode memiliki keunggulan dan keterbatasan yang bergantung pada jenis sampel, tujuan analisis, serta parameter kualitas DNA yang dihasilkan. Artikel ini bertujuan untuk mengulas prinsip dasar isolasi DNA secara ringkas serta membandingkan berbagai metode isolasi DNA berdasarkan kemurnian, konsentrasi, integritas, efisiensi waktu, dan biaya. Kajian dilakukan menggunakan pendekatan narrative literature review dengan mensintesis berbagai sumber ilmiah yang relevan. Hasil kajian menunjukkan bahwa tidak terdapat metode isolasi DNA yang unggul secara universal. Metode konvensional cenderung menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi namun kurang efisien, sedangkan metode modern lebih cepat dan praktis tetapi memiliki keterbatasan tertentu, seperti biaya dan potensi bias fragmen DNA. Selain itu, faktor seperti jenis sampel dan keberadaan inhibitor berperan penting dalam menentukan kualitas DNA yang dihasilkan. Kesimpulannya, pemilihan metode isolasi DNA harus disesuaikan dengan kebutuhan analisis dan karakteristik sampel. Tidak adanya metode universal menunjukkan perlunya pengembangan teknik isolasi DNA yang lebih adaptif, efisien, dan terstandarisasi untuk mendukung kemajuan penelitian biologi molekuler.

Kata kunci: Isolasi DNA; Penol-kloroform; CTAB; PCR; Sekuensing

ABSTRACT

DNA isolation is a crucial initial step in molecular biology analysis because the quality of the resulting DNA determines the success of subsequent processes, such as polymerase chain reaction (PCR) and sequencing. Various DNA isolation methods have been developed, ranging from conventional methods such as phenol-chloroform and CTAB to modern methods based on silica columns and magnetic beads. Each method has advantages and limitations, depending on the sample type, analytical objectives, and the quality parameters of the resulting DNA. This article aims to briefly review the basic principles of DNA isolation and compare various DNA isolation methods based on purity, concentration, integrity, time efficiency, and cost. The study was conducted using a narrative literature review approach, synthesizing various relevant scientific sources. The results indicate that no single DNA isolation method is universally superior. Conventional methods tend to produce DNA with high purity but are less efficient, while modern methods are faster and more practical but have certain limitations, such as cost and the potential for DNA fragment bias. Furthermore, factors such as sample type and the presence of

*) Korespondensi penulis:
Email: suparthana@unud.ac.id

inhibitors play a significant role in determining the quality of the resulting DNA. In conclusion, the choice of DNA isolation method must be tailored to the analytical needs and sample characteristics. The absence of a universal method indicates the need to develop more adaptive, efficient, and standardized DNA isolation techniques to support the advancement of molecular biology research.

Keyword: DNA isolation, Phenol-chloroform, CTAB, PCR, Sequencing

PENDAHULUAN

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan molekul fundamental yang menyimpan informasi genetik pada hampir seluruh organisme hidup. Sejak struktur DNA dijelaskan oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953, pemanfaatan DNA berkembang pesat dalam berbagai bidang, termasuk diagnostik molekuler, forensik, dan bioteknologi. Dalam praktiknya, keberhasilan berbagai analisis tersebut sangat bergantung pada kualitas DNA yang digunakan, baik dari segi kemurnian, konsentrasi, maupun integritas (Green & Sambrook, 2012).

Isolasi DNA merupakan tahap awal yang krusial dalam seluruh rangkaian analisis molekuler. Proses ini bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen seluler lain seperti protein, lipid, dan RNA, sehingga diperoleh DNA yang layak untuk analisis lanjutan. Namun, kualitas DNA hasil isolasi seringkali tidak konsisten karena dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis sampel, metode ekstraksi, serta keberadaan senyawa penghambat yang dapat mengganggu reaksi enzimatik seperti PCR (Tan & Yiap, 2009; Ali et al., 2017).

Berbagai metode isolasi DNA telah dikembangkan untuk menjawab kebutuhan tersebut, mulai dari metode konvensional seperti fenol-kloroform dan CTAB hingga metode modern berbasis kolom silika dan magnetic beads. Metode konvensional umumnya menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi, tetapi memiliki keterbatasan dalam hal waktu, kompleksitas prosedur, dan aspek keamanan. Sebaliknya, metode modern menawarkan kemudahan dan efisiensi, namun seringkali dihadapkan pada keterbatasan biaya serta potensi bias terhadap

karakteristik DNA yang dihasilkan (Sambrook & Russell, 2001; Rohland & Reich, 2012).

Meskipun beragam metode telah tersedia, hingga saat ini belum terdapat satu pendekatan yang dapat diaplikasikan secara universal pada semua jenis sampel. Efektivitas metode sangat bergantung pada karakteristik biologis sampel, seperti kandungan polisakarida dan polifenol pada jaringan tanaman atau kompleksitas matriks pada sampel klinis (Varma et al., 2007; Schrader et al., 2012). Selain itu, perbandingan antar metode seringkali tidak disajikan dalam kerangka analisis yang terintegrasi, sehingga menyulitkan peneliti dalam menentukan metode yang paling sesuai.

Berdasarkan kondisi tersebut, diperlukan suatu kajian literatur yang tidak hanya bersifat deskriptif, tetapi juga mampu menyajikan sintesis dan analisis komparatif terhadap berbagai metode isolasi DNA. Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk mengulas prinsip dasar isolasi DNA secara ringkas, membandingkan metode yang tersedia berdasarkan keunggulan dan keterbatasannya, serta mengidentifikasi kesenjangan penelitian yang masih terbuka dalam bidang ini.

METODE

Artikel ini disusun menggunakan pendekatan narrative literature review dengan mengkaji berbagai sumber ilmiah yang relevan terkait metode isolasi DNA. Literatur diperoleh dari database seperti Google Scholar, PubMed, dan ScienceDirect dengan menggunakan kata kunci "DNA isolation", "DNA extraction methods", dan "DNA quality". Artikel yang dipilih

merupakan publikasi ilmiah dalam rentang waktu yang relevan serta memiliki keterkaitan langsung dengan topik yang dibahas. Analisis dilakukan secara deskriptif dan komparatif untuk mengidentifikasi keunggulan, keterbatasan, serta kesenjangan penelitian dalam metode isolasi DNA.

PEMBAHASAN

Prinsip Dasar Isolasi DNA

Struktur dan Karakteristik DNA

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan molekul yang menyimpan informasi genetik dalam bentuk urutan nukleotida yang spesifik. Struktur DNA sebagai heliks ganda pertama kali dijelaskan oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953, yang menjadi dasar pemahaman mengenai penyimpanan dan pewarisan informasi genetik (Watson & Crick, 1953).

Secara struktural, DNA tersusun atas nukleotida yang terdiri dari gula deoksiribosa, gugus fosfat, dan basa nitrogen (adenin, timin, guanin, dan sitosin). Pasangan basa A–T dan G–C dihubungkan oleh ikatan hidrogen yang menjaga stabilitas struktur DNA sekaligus memungkinkan proses replikasi berlangsung akurat (Alberts et al., 2015).

Dalam konteks isolasi, DNA memiliki dua karakteristik penting, yaitu stabilitas kimia dan kelarutan dalam larutan berair. DNA relatif stabil dibandingkan RNA, tetapi tetap rentan terhadap degradasi oleh enzim nuklease serta kondisi lingkungan ekstrem (Lodish et al., 2016). Selain itu, DNA dapat dipresipitasi menggunakan alkohol dalam kondisi tertentu, yang menjadi dasar dalam proses pemurnian DNA (Green & Sambrook, 2012).

Karakteristik lain yang penting adalah integritas DNA, khususnya panjang fragmen. DNA yang terfragmentasi akan menurunkan efektivitas analisis lanjutan seperti PCR dan sekuensing. Oleh karena itu, metode isolasi tidak hanya bertujuan memperoleh DNA dalam jumlah cukup, tetapi juga mempertahankan keutuhan strukturnya (Tan & Yiap, 2009).

Tahapan Isolasi DNA

Proses isolasi DNA secara umum terdiri atas tiga tahapan utama, yaitu lisis sel, pemisahan komponen non-DNA, dan presipitasi DNA. Ketiga tahapan ini menjadi dasar bagi hampir semua metode isolasi DNA yang digunakan saat ini (Green & Sambrook, 2012).

I. Lisis Sel

Lisis sel bertujuan untuk melepaskan DNA dari dalam sel melalui penghancuran membran sel dan inti. Proses ini umumnya menggunakan deterjen seperti SDS atau CTAB, serta dapat dikombinasikan dengan perlakuan mekanik dan enzimatik (Wilson & Walker, 2010). Efektivitas lisis sangat dipengaruhi oleh jenis sampel. Sel dengan dinding kuat, seperti bakteri Gram-positif atau jaringan tanaman, memerlukan perlakuan yang lebih intensif dibandingkan sel hewan (Sambrook & Russell, 2001). Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, lisis yang terlalu agresif dapat menyebabkan fragmentasi DNA, sehingga diperlukan keseimbangan antara efisiensi pelepasan DNA dan menjaga integritasnya.

II. Pemisahan Komponen Non-DNA

Tahap ini bertujuan menghilangkan kontaminan seperti protein, lipid, dan RNA. Protein dapat dihilangkan melalui denaturasi enzimatik atau ekstraksi organik, sedangkan RNA biasanya dihilangkan menggunakan RNase (Green & Sambrook, 2012). Keberadaan senyawa penghambat seperti polisakarida dan polifenol, terutama pada sampel tanaman, menjadi tantangan karena dapat mengganggu analisis lanjutan seperti PCR (Schrader et al., 2012). Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, tahap ini menjadi penentu utama kemurnian DNA. Metode yang berbeda menunjukkan efektivitas yang bervariasi dalam menghilangkan inhibitor, tergantung pada jenis sampel.

III. Presipitasi DNA

Presipitasi DNA dilakukan dengan menggunakan alkohol (etanol atau isopropanol) dalam kondisi adanya garam.

Proses ini menyebabkan DNA mengendap dan dapat dipisahkan melalui sentrifugasi (Tan & Yiap, 2009). DNA yang diperoleh kemudian dicuci dan dilarutkan kembali untuk digunakan dalam analisis lanjutan. Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, kondisi presipitasi yang tidak optimal dapat menyebabkan kehilangan DNA atau kontaminasi residu, sehingga mempengaruhi kualitas hasil akhir.

Parameter Kualitas DNA

Kualitas DNA hasil isolasi ditentukan oleh tiga parameter utama, yaitu kemurnian, konsentrasi, dan integritas. Ketiga parameter ini saling berkaitan dan mempengaruhi keberhasilan analisis molekuler (Desjardins & Conklin, 2010).

I. Kemurnian DNA

Kemurnian DNA umumnya diukur menggunakan rasio A260/A280, dengan nilai sekitar 1,8 menunjukkan DNA yang relatif murni. Rasio A260/A230 juga digunakan untuk mendeteksi kontaminan organik (Desjardins & Conklin, 2010). Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, nilai rasio yang ideal tidak selalu menjamin bebas dari inhibitor, sehingga evaluasi kemurnian perlu dikombinasikan dengan parameter lain.

II. Konsentrasi DNA

Konsentrasi DNA menunjukkan jumlah DNA yang diperoleh dan dapat diukur menggunakan spektrofotometri atau fluorometri. Metode fluorometri lebih selektif karena menggunakan pewarna spesifik DNA (Simbolo et al., 2013). Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, konsentrasi tinggi tidak selalu mencerminkan kualitas baik, karena dapat disertai kontaminasi.

III. Integritas DNA

Integritas DNA berkaitan dengan keutuhan struktur dan panjang fragmen DNA. Evaluasi biasanya dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa, di mana DNA utuh terlihat sebagai pita yang jelas (Wilfinger et al., 1997). Adapun hal yang dapat dikritisi adalah, integritas DNA

sangat penting untuk aplikasi seperti sekuensing genom, sehingga metode isolasi harus mempertimbangkan potensi fragmentasi.

Prinsip dasar isolasi DNA menunjukkan bahwa keberhasilan proses tidak hanya ditentukan oleh prosedur teknis, tetapi juga oleh kemampuan menjaga keseimbangan antara efisiensi dan kualitas DNA. Ketiga tahapan isolasi serta parameter kualitas yang dihasilkan menjadi dasar dalam mengevaluasi berbagai metode isolasi DNA secara komparatif pada bagian berikutnya.

Metode Isolasi DNA: Analisis Komparatif Metode Konvensional

Meskipun berbagai metode modern telah berkembang pesat, metode konvensional dalam isolasi DNA masih banyak digunakan hingga saat ini. Hal ini bukan tanpa alasan, karena metode konvensional umumnya memiliki dasar prinsip yang kuat dan dalam beberapa kondisi justru mampu menghasilkan DNA dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan metode modern. Dua metode yang paling umum digunakan adalah metode fenol-kloroform dan metode CTAB.

I. Metode Fenol-Kloroform

Metode fenol-kloroform merupakan salah satu teknik isolasi DNA klasik yang telah lama digunakan dalam biologi molekuler. Prinsip utama metode ini adalah pemisahan komponen seluler berdasarkan perbedaan kelarutan dalam fase organik dan fase air. Dalam proses ini, campuran fenol dan kloroform digunakan untuk mendenaturasi protein, sehingga protein akan terpisah ke fase organik, sementara DNA tetap berada pada fase air (Green & Sambrook, 2012).

Keunggulan utama metode ini terletak pada kemampuannya menghasilkan DNA dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Oleh karena itu, metode fenol-kloroform sering dianggap sebagai “gold standard” dalam isolasi DNA, terutama untuk aplikasi yang membutuhkan DNA dengan kualitas tinggi seperti analisis genomik (Sambrook &

Russell, 2001). Namun demikian, metode ini memiliki sejumlah keterbatasan yang signifikan. Penggunaan fenol dan kloroform yang bersifat toksik dan korosif menimbulkan risiko terhadap keselamatan kerja di laboratorium. Untuk prosesnya relatif memakan waktu dan melibatkan banyak tahapan, sehingga meningkatkan potensi kesalahan teknis dan kontaminasi (Tan & Yiap, 2009).

Adapun hal yang dapat dikritisi yaitu, meskipun unggul dalam kemurnian, metode ini kurang efisien untuk kebutuhan analisis berskala besar. Hal ini menunjukkan adanya kompromi antara kualitas DNA dan efisiensi proses.

II. Metode CTAB

Metode CTAB merupakan teknik isolasi DNA yang широко digunakan terutama pada sampel tanaman. Metode ini dikembangkan untuk mengatasi tantangan isolasi DNA dari jaringan yang kaya akan polisakarida dan polifenol, yang diketahui dapat mengganggu proses analisis molekuler (Doyle & Doyle, 1987).

Prinsip kerja CTAB didasarkan pada kemampuan deterjen kationik ini untuk mengikat polisakarida dan memfasilitasi pemisahan DNA dari kontaminan tersebut. Dalam kondisi tertentu, CTAB juga membantu mengendapkan kompleks DNA-protein sehingga mempermudah proses pemurnian lebih lanjut.

Keunggulan utama metode ini adalah efektivitasnya dalam menghasilkan DNA dari sampel yang kompleks, terutama jaringan tanaman yang sulit ditangani dengan metode lain. Oleh karena itu, metode CTAB masih menjadi pilihan utama dalam banyak penelitian di bidang bioteknologi tanaman (Varma et al., 2007).

Namun demikian, metode CTAB memiliki prosedur yang relatif kompleks dan memerlukan optimasi kondisi yang tepat, seperti konsentrasi garam dan suhu inkubasi. Penggunaan bahan kimia tertentu dalam metode ini juga memerlukan penanganan yang hati-hati (Wilson & Walker, 2010).

Adapun hal yang dapat dikritisi yaitu, keunggulan metode CTAB sangat kontekstual, yaitu bergantung pada jenis sampel. Metode ini sangat efektif untuk tanaman, tetapi tidak selalu memberikan hasil optimal pada sampel lain seperti darah atau jaringan hewan. Hal ini menegaskan bahwa tidak ada metode isolasi DNA yang bersifat universal, dan pemilihan metode harus mempertimbangkan karakteristik biologis sampel.

Sintesis Metode Konvensional - Baik metode fenol-kloroform maupun CTAB menunjukkan bahwa metode konvensional masih memiliki relevansi yang kuat dalam penelitian biologi molekuler. Fenol-kloroform unggul dalam kemurnian DNA, sementara CTAB efektif untuk sampel kompleks seperti tanaman. Namun, keduanya memiliki keterbatasan dalam hal efisiensi, keamanan, dan fleksibilitas aplikasi.

Dengan demikian, meskipun metode modern menawarkan kemudahan dan kecepatan, metode konvensional tetap menjadi pilihan penting dalam kondisi tertentu. Hal ini memperkuat gagasan bahwa pemilihan metode isolasi DNA tidak dapat dilakukan secara generik, melainkan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian dan jenis sampel yang digunakan.

Metode Modern

Perkembangan teknologi biologi molekuler telah mendorong munculnya berbagai metode isolasi DNA yang lebih cepat, praktis, dan aman dibandingkan metode konvensional. Dua pendekatan yang paling banyak digunakan saat ini adalah metode berbasis kolom silika (silica column-based extraction) dan metode berbasis partikel magnetik (magnetic beads). Kedua metode ini tidak hanya dirancang untuk meningkatkan efisiensi, tetapi juga untuk mengurangi penggunaan bahan kimia berbahaya serta mempermudah standarisasi prosedur, terutama dalam laboratorium dengan throughput tinggi (Rohland & Reich, 2012; Tan & Yiap, 2009).

I. Metode Berbasis Kolom Silika

Metode berbasis kolom silika merupakan salah satu teknik isolasi DNA yang paling широко digunakan dalam laboratorium modern, terutama melalui kit komersial. Prinsip dasar metode ini adalah kemampuan DNA untuk berikatan dengan membran silika dalam kondisi garam chaotropic tinggi. Dalam kondisi tersebut, struktur air di sekitar DNA terganggu sehingga memungkinkan DNA beradsorpsi pada permukaan silika (Boom et al., 1990).

Proses isolasi umumnya melibatkan beberapa tahapan sederhana, yaitu lisis sel, pengikatan DNA pada kolom, pencucian untuk menghilangkan kontaminan, dan elusi DNA dalam buffer rendah garam. Keunggulan utama metode ini adalah kemudahan penggunaan, waktu pengerjaan yang relatif singkat, serta konsistensi hasil yang tinggi.

Namun demikian, metode ini juga memiliki keterbatasan. Kapasitas kolom yang terbatas dapat membatasi jumlah DNA yang diperoleh, terutama pada sampel dengan kandungan DNA tinggi. בנוסף, beberapa studi menunjukkan bahwa metode ini dapat menghasilkan bias terhadap ukuran fragmen DNA, di mana fragmen kecil lebih mudah terelusi dibandingkan fragmen panjang (Rohland & Reich, 2012).

Analisis kritis: Metode kolom silika sangat unggul dalam hal standarisasi dan reproducibility, menjadikannya pilihan utama dalam diagnostik klinis. Namun, dalam konteks penelitian genomik yang memerlukan DNA utuh dengan panjang fragmen besar, metode ini tidak selalu optimal. Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi prosedural seringkali dicapai dengan mengorbankan fleksibilitas terhadap jenis analisis.

II. Metode Berbasis Magnetic Beads

Metode berbasis magnetic beads merupakan inovasi yang semakin populer dalam isolasi DNA, terutama dalam sistem otomatis dan high-throughput. Prinsip metode ini didasarkan pada penggunaan partikel magnetik yang dilapisi dengan bahan

tertentu (misalnya silika atau polimer khusus) yang mampu mengikat DNA dalam kondisi tertentu.

Setelah DNA berikatan dengan beads, pemisahan dapat dilakukan dengan bantuan medan magnet tanpa memerlukan sentrifugasi. Hal ini tidak hanya mempercepat proses, tetapi juga mengurangi kehilangan sampel dan meningkatkan efisiensi kerja, terutama dalam skala besar (DeAngelis et al., 1995).

Keunggulan utama metode ini adalah kemampuannya untuk diintegrasikan dengan sistem otomatis, sehingga sangat cocok untuk aplikasi seperti sekuensing generasi berikutnya (next-generation sequencing/NGS). Metode ini relatif fleksibel dan dapat disesuaikan untuk berbagai jenis sampel.

Namun demikian, metode ini juga tidak lepas dari keterbatasan. Biaya yang relatif tinggi menjadi salah satu kendala utama, terutama untuk penggunaan rutin di laboratorium dengan sumber daya terbatas. Selain itu, efisiensi pengikatan DNA dapat dipengaruhi oleh kondisi buffer dan jenis beads yang digunakan, sehingga memerlukan optimasi tertentu (Tan & Yiap, 2009).

Analisis kritis: Metode magnetic beads mencerminkan arah perkembangan isolasi DNA menuju otomatisasi dan efisiensi tinggi. Namun, ketergantungan pada teknologi dan biaya yang tinggi dapat menjadi hambatan dalam implementasi luas, khususnya di laboratorium berkembang. Ini menunjukkan adanya kesenjangan antara inovasi teknologi dan aksesibilitas.

Sintesis Metode Modern - Metode modern seperti kolom silika dan magnetic beads menawarkan keunggulan signifikan dalam hal kecepatan, kemudahan, dan keamanan dibandingkan metode konvensional. Namun, keunggulan tersebut tidak selalu diikuti dengan performa optimal dalam aspek kualitas DNA. Metode kolom silika unggul dalam konsistensi dan kemudahan penggunaan, sedangkan magnetic beads memberikan fleksibilitas dan kompatibilitas dengan sistem otomatis.

Meskipun demikian, kedua metode ini menunjukkan bahwa modernisasi dalam isolasi DNA cenderung mengarah pada efisiensi dan skalabilitas, terkadang dengan kompromi terhadap aspek tertentu seperti panjang fragmen DNA atau biaya operasional. Oleh karena itu, pemilihan metode modern tetap harus mempertimbangkan tujuan analisis dan sumber daya yang tersedia.

Metode Spesifik Aplikasi

Selain metode konvensional dan modern yang bersifat umum, terdapat beberapa metode isolasi DNA yang dikembangkan untuk tujuan atau konteks aplikasi tertentu. Metode-metode ini biasanya dirancang untuk menjawab kebutuhan spesifik, seperti kecepatan analisis, keterbatasan sampel, atau kondisi lapangan. Dua metode yang sering digunakan dalam konteks ini adalah metode Chelex dan metode ekstraksi cepat (rapid extraction).

I. Metode Chelex

Metode Chelex merupakan teknik isolasi DNA yang banyak digunakan dalam bidang forensik dan analisis genetik berbasis PCR. Metode ini menggunakan resin Chelex 100, yaitu polimer yang mampu mengikat ion logam divalen seperti Mg^{2+} . Ion tersebut diketahui berperan sebagai kofaktor enzim nuklease yang dapat mendegradasi DNA (Walsh et al., 1991).

Dalam prosedurnya, sampel dipanaskan bersama resin Chelex sehingga terjadi lisis sel sekaligus inaktivasi nuklease. DNA yang dihasilkan kemudian dapat langsung digunakan untuk PCR tanpa melalui proses pemurnian yang kompleks.

Keunggulan utama metode ini adalah kesederhanaan dan kecepatannya. Prosedur yang minimal membuat metode Chelex sangat cocok untuk analisis dengan jumlah sampel besar atau dalam kondisi dengan keterbatasan fasilitas laboratorium.

Namun demikian, metode ini memiliki keterbatasan dalam hal kualitas DNA. DNA yang dihasilkan umumnya tidak memiliki tingkat kemurnian tinggi dan kurang stabil

untuk penyimpanan jangka panjang. Selain itu, metode ini tidak cocok untuk aplikasi yang memerlukan DNA dengan integritas tinggi, seperti sekuensing genom (Walsh et al., 1991; Alaeddini et al., 2010).

Analisis kritis: Metode Chelex mencerminkan pendekatan pragmatis dalam isolasi DNA, mengorbankan kemurnian dan stabilitas demi kecepatan dan kemudahan. Hal ini menunjukkan bahwa dalam konteks tertentu, seperti forensik, kecepatan memperoleh hasil dapat lebih penting dibandingkan kualitas DNA yang sempurna.

II. Metode Rapid Extraction

Metode rapid extraction merupakan pendekatan yang dirancang untuk memperoleh DNA secara cepat dengan prosedur minimal, sering kali tanpa tahap pemurnian yang kompleks. Metode ini biasanya melibatkan perlakuan sederhana seperti pemanasan, penggunaan buffer lisis sederhana, atau kombinasi keduanya untuk melepaskan DNA dari sel (Schrader et al., 2012).

Metode ini banyak digunakan dalam aplikasi diagnostik cepat, terutama pada kondisi lapangan (field-based analysis) atau dalam situasi yang membutuhkan hasil dalam waktu singkat. Salah satu keunggulannya adalah kemampuannya untuk mengurangi waktu preparasi sampel secara signifikan.

Namun, seperti metode Chelex, rapid extraction juga memiliki keterbatasan. DNA yang dihasilkan seringkali masih mengandung inhibitor yang dapat mengganggu reaksi enzimatik seperti PCR. Selain itu, reproduktibilitas hasil dapat menjadi masalah, terutama jika prosedur tidak distandarisasi dengan baik.

Analisis kritis: Metode rapid extraction menegaskan adanya pergeseran kebutuhan dalam biologi molekuler, dari sekadar kualitas menuju kecepatan dan efisiensi. Namun, pendekatan ini juga memperlihatkan batasan yang jelas, di mana peningkatan kecepatan sering kali disertai dengan penurunan kualitas dan konsistensi hasil.

Sintesis Metode Spesifik - Metode spesifik aplikasi seperti Chelex dan rapid extraction menunjukkan bahwa isolasi DNA tidak selalu bertujuan menghasilkan DNA dengan kualitas tertinggi, melainkan DNA yang “cukup” untuk tujuan tertentu. Dalam konteks forensik atau diagnostik cepat, kecepatan dan kemudahan dapat menjadi prioritas utama dibandingkan kemurnian atau integritas DNA.

Hal ini memperkuat konsep bahwa tidak ada satu metode isolasi DNA yang ideal untuk semua situasi. Sebaliknya, setiap metode memiliki niche aplikasinya masing-masing. Oleh karena itu, pemilihan metode harus didasarkan pada keseimbangan antara kebutuhan kualitas DNA, waktu analisis, dan ketersediaan sumber daya.

Perbandingan Metode Isolasi DNA

Berbagai metode isolasi DNA yang telah dikembangkan pada dasarnya merupakan variasi dari prinsip yang sama, namun dengan pendekatan teknis yang berbeda. Perbedaan ini menghasilkan variasi dalam kualitas DNA, efisiensi waktu, biaya, serta kesesuaian terhadap jenis sampel. Oleh karena itu, perbandingan antar metode menjadi penting untuk memberikan gambaran yang lebih objektif dalam pemilihan teknik isolasi DNA yang tepat.

I. Analisis Komparatif

Dari Table 1, terlihat bahwa tidak ada metode yang secara konsisten unggul dalam semua parameter. Metode fenol-kloroform dan CTAB cenderung menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi, namun membutuhkan waktu lebih lama dan melibatkan prosedur yang kompleks. Sebaliknya, metode modern seperti kolom silika dan magnetic beads menawarkan efisiensi waktu dan kemudahan penggunaan, tetapi dengan biaya yang lebih tinggi.

Hal yang menarik adalah, metode berbasis magnetic beads menunjukkan keunggulan dalam konteks otomatisasi dan high-throughput, menjadikannya pilihan utama dalam laboratorium genomik modern. Namun, keunggulan ini tidak serta-merta

menjadikannya metode terbaik secara universal, karena keterbatasan biaya dapat menjadi hambatan dalam implementasi luas (Rohland & Reich, 2012).

Di sisi lain, metode seperti Chelex dan rapid extraction menunjukkan bahwa dalam kondisi tertentu, kualitas DNA bukanlah satu-satunya prioritas. Dalam aplikasi forensik atau diagnostik cepat, kecepatan dan kesederhanaan prosedur sering kali lebih diutamakan dibandingkan kemurnian atau integritas DNA (Walsh et al., 1991).

Analisis kritis utama: Perbandingan ini menunjukkan adanya trade-off fundamental dalam isolasi DNA, yaitu:

- Kualitas vs kecepatan
- Kemurnian vs biaya
- Integritas DNA vs kemudahan prosedur

Tidak ada metode yang mampu mengoptimalkan semua aspek tersebut secara bersamaan. Oleh karena itu, klaim bahwa suatu metode “lebih baik” harus selalu dikontekstualisasikan terhadap tujuan penelitian dan jenis sampel.

II. Implikasi Pemilihan Metode

Pemilihan metode isolasi DNA seharusnya tidak didasarkan pada popularitas atau kemudahan semata, tetapi pada kesesuaian dengan kebutuhan analisis. Sebagai contoh:

- Untuk sekuensing genom atau analisis fragmen panjang, metode konvensional mungkin lebih sesuai karena menjaga integritas DNA
- Untuk diagnostik rutin, metode kolom silika lebih efisien
- Untuk high-throughput sequencing, magnetic beads menjadi pilihan utama
- Untuk analisis cepat di lapangan, rapid extraction lebih relevan

Insight penting: Pendekatan ini menegaskan bahwa isolasi DNA adalah proses yang decision-based, bukan sekadar

Tabel 1. Sintesis perbandingan beberapa metode isolasi DNA

| Metode | Kemurnian DNA | Yield | Waktu | Biaya | Kesesuaian Sampel | Kelebihan Utama | Keterbatasan |
|------------------|------------------|---------------|--------------|---------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Fenol-kloroform | Tinggi | Tinggi | Lama | Rendah-sedang | Umum | Kemurnian tinggi | Toksik, prosedur kompleks |
| CTAB | Tinggi (tanaman) | Sedang-tinggi | Sedang | Rendah | Tanaman | Efektif untuk polisakarida | Perlu optimasi |
| Kolom silika | Sedang-tinggi | Sedang | Cepat | Tinggi | Umum | Praktis, konsisten | Kapasitas terbatas |
| Magnetic beads | Tinggi | Sedang-tinggi | Sangat cepat | Tinggi | Umum & high-throughput | Otomatisasi | Biaya tinggi |
| Chelex | Rendah-sedang | Rendah | Sangat cepat | Rendah | Forensik | Sederhana | Stabilitas rendah |
| Rapid extraction | Rendah-sedang | Variatif | Sangat cepat | Sangat rendah | Lapangan/diagnostik cepat | Minimal prosedur | Banyak inhibitor |

prosedur teknis. Artinya, keberhasilan isolasi DNA sangat bergantung pada kemampuan peneliti dalam memilih metode yang tepat, bukan hanya menjalankan prosedur dengan benar.

Secara keseluruhan, perbandingan metode isolasi DNA menunjukkan bahwa setiap pendekatan memiliki keunggulan dan keterbatasan yang spesifik. Tidak adanya metode universal menjadi tantangan sekaligus peluang dalam pengembangan teknik isolasi DNA yang lebih adaptif. Oleh karena itu, pemahaman komparatif terhadap berbagai metode menjadi kunci dalam meningkatkan kualitas hasil penelitian di bidang biologi molekuler.

Gap Penelitian dan Tantangan dalam Isolasi DNA

Meskipun berbagai metode isolasi DNA telah berkembang secara signifikan, hingga saat ini masih terdapat sejumlah keterbatasan yang menunjukkan bahwa bidang ini belum mencapai kondisi yang sepenuhnya optimal. Keberagaman metode yang tersedia justru mengindikasikan bahwa belum ada pendekatan tunggal yang mampu menjawab seluruh kebutuhan isolasi DNA pada berbagai jenis sampel dan aplikasi. Oleh karena itu, identifikasi gap penelitian menjadi penting untuk memahami arah pengembangan metode isolasi DNA di masa depan.

I. Ketiadaan Metode Universal

Salah satu tantangan utama dalam isolasi DNA adalah tidak adanya metode yang dapat diaplikasikan secara universal pada semua jenis sampel. Setiap jenis sampel, baik jaringan hewan, darah, mikroorganisme, maupun tanaman memiliki karakteristik biologis yang berbeda, sehingga memerlukan pendekatan isolasi yang spesifik (Tan & Yiap, 2009).

Sebagai contoh, sampel tanaman sering mengandung polisakarida dan polifenol yang dapat mengganggu proses isolasi dan analisis lanjutan, sehingga metode seperti CTAB lebih sesuai. Sebaliknya, metode tersebut tidak selalu optimal untuk sampel klinis atau mikroba.

Implikasi gap: Belum adanya metode universal menyebabkan peneliti harus melakukan trial-and-error dalam menentukan metode yang sesuai, yang dapat meningkatkan waktu dan biaya penelitian.

II. Trade-off antara Kualitas, Kecepatan, dan Biaya

Sebagian besar metode isolasi DNA menunjukkan adanya kompromi antara beberapa parameter utama, yaitu kemurnian, integritas DNA, waktu pengerjaan, dan biaya. Metode konvensional cenderung menghasilkan DNA dengan kualitas tinggi, tetapi memerlukan waktu lebih lama dan melibatkan bahan kimia berbahaya. Sebaliknya, metode modern lebih cepat dan

aman, tetapi seringkali memiliki keterbatasan dalam hal biaya atau karakteristik DNA yang dihasilkan (Rohland & Reich, 2012).

Implikasi gap: Belum ada metode yang mampu mengoptimalkan semua parameter secara bersamaan, sehingga pemilihan metode selalu bersifat kontekstual dan kompromistis.

III. Masalah Kontaminan dan Inhibitor

Keberadaan kontaminan seperti protein, RNA, serta inhibitor PCR (misalnya polisakarida, hemoglobin, dan senyawa fenolik) masih menjadi tantangan utama dalam isolasi DNA. Kontaminan ini dapat mengganggu reaksi enzimatik dan menurunkan akurasi analisis molekuler (Schrader et al., 2012). Meskipun berbagai metode telah dirancang untuk mengatasi masalah ini, efektivitasnya masih sangat bergantung pada jenis sampel dan kondisi isolasi.

Implikasi gap: Belum ada pendekatan yang secara konsisten mampu menghilangkan seluruh jenis inhibitor tanpa mempengaruhi kualitas DNA.

IV. Keterbatasan dalam Isolasi DNA Berkualitas Tinggi untuk Teknologi Lanjut

Perkembangan teknologi seperti next-generation sequencing (NGS) dan long-read sequencing menuntut DNA dengan kualitas yang sangat tinggi, terutama dari segi integritas dan panjang fragmen. Namun, tidak semua metode isolasi DNA mampu memenuhi kebutuhan ini secara konsisten (Simbolo et al., 2013).

Metode yang cepat dan praktis seringkali menghasilkan DNA yang terfragmentasi, sehingga kurang cocok untuk aplikasi berbasis sekuensing lanjutan.

Implikasi gap: Masih diperlukan metode isolasi DNA yang mampu menghasilkan DNA berkualitas tinggi secara konsisten untuk mendukung teknologi genomik modern.

V. Kesenjangan Akses terhadap Teknologi Modern

Meskipun metode modern seperti magnetic beads dan sistem otomatis menawarkan efisiensi tinggi, akses terhadap teknologi ini masih terbatas di banyak laboratorium, terutama di negara berkembang. Faktor biaya dan ketersediaan alat menjadi kendala utama dalam adopsi teknologi tersebut.

Implikasi gap: Terdapat kesenjangan antara perkembangan teknologi dan implementasinya secara global, yang berpotensi mempengaruhi kualitas dan konsistensi penelitian.

Sintesis Gap dan Arah Penelitian

Secara keseluruhan, gap dalam isolasi DNA menunjukkan bahwa pengembangan metode di masa depan perlu mengarah pada:

- peningkatan fleksibilitas metode terhadap berbagai jenis sampel
- pengurangan trade-off antara kualitas dan efisiensi
- peningkatan kemampuan dalam mengatasi kontaminan
- pengembangan teknologi yang lebih terjangkau dan mudah diakses

Dengan demikian, penelitian di bidang isolasi DNA tidak hanya berfokus pada inovasi teknologi, tetapi juga pada adaptabilitas dan aksesibilitas metode.

KESIMPULAN

Isolasi DNA merupakan tahap fundamental dalam biologi molekuler yang secara langsung menentukan keberhasilan berbagai analisis lanjutan, mulai dari PCR hingga sekuensing genom. Berdasarkan kajian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa berbagai metode isolasi DNA, baik konvensional maupun modern memiliki keunggulan dan keterbatasan masing-masing yang sangat dipengaruhi oleh jenis sampel, tujuan analisis, serta ketersediaan sumber daya.

Metode konvensional seperti fenol-kloroform dan CTAB masih menunjukkan performa yang baik dalam menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi, terutama pada sampel kompleks. Namun, metode ini

memiliki keterbatasan dalam hal efisiensi waktu, keamanan, dan kompleksitas prosedur. Di sisi lain, metode modern seperti kolom silika dan magnetic beads menawarkan kemudahan, kecepatan, dan konsistensi hasil, tetapi seringkali dihadapkan pada kendala biaya serta potensi keterbatasan dalam menjaga integritas DNA tertentu.

Hasil analisis komparatif menunjukkan bahwa tidak terdapat metode isolasi DNA yang dapat dianggap sebagai metode terbaik secara universal. Sebaliknya, pemilihan metode harus didasarkan pada keseimbangan antara parameter kualitas DNA (kemurnian, konsentrasi, dan integritas), efisiensi proses, serta konteks aplikasi yang diinginkan. Dengan demikian, isolasi DNA tidak dapat dipandang sebagai prosedur teknis yang bersifat rutin, melainkan sebagai proses berbasis keputusan (decision-based process) yang memerlukan pertimbangan ilmiah yang matang.

Selain itu, masih terdapat berbagai tantangan dalam pengembangan metode isolasi DNA, termasuk ketiadaan metode universal, keberadaan kontaminan dan inhibitor, serta tuntutan kualitas DNA yang semakin tinggi seiring dengan perkembangan teknologi genomik. Kesenjangan akses terhadap teknologi modern juga menjadi faktor yang perlu diperhatikan dalam upaya peningkatan kualitas penelitian secara global.

Oleh karena itu, penelitian di masa depan diharapkan tidak hanya berfokus pada peningkatan efisiensi dan kualitas isolasi DNA, tetapi juga pada pengembangan metode yang lebih adaptif, terstandarisasi, dan sesuai untuk berbagai kondisi laboratorium. Pendekatan ini diharapkan dapat mendukung kemajuan penelitian biologi molekuler secara lebih luas dan inklusif.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaeddini, R., Walsh, S. J., & Abbas, A. (2010). Forensic implications of PCR inhibition. *Forensic Science International: Genetics*, 4(3), 153–160.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015). *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). Garland Science.
- Ali, N., Rampazzo, R. C. P., Costa, A. D. T., & Krieger, M. A. (2017). Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics. *BioMed Research International*, 2017, 9306564.
- Boom, R., Sol, C. J. A., Salimans, M. M. M., Jansen, C. L., Wertheim-van Dillen, P. M. E., & Van der Noordaa, J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(3), 495–503.
- DeAngelis, M. M., Wang, D. G., & Hawkins, T. L. (1995). Solid-phase reversible immobilization for the isolation of PCR products. *Nucleic Acids Research*, 23(22), 4742–4743.
- Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *Journal of Visualized Experiments*, (45), e2565.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11–15.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2012). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (4th ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., Ploegh, H., & Matsudaira, P. (2016). *Molecular Cell Biology* (8th ed.). W.H. Freeman.
- Rohland, N., & Reich, D. (2012). Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Research*, 22(5), 939–946.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors – occurrence, properties and removal.

- Journal of Applied Microbiology, 113(5), 1014–1026.
- Simbolo, M., Gottardi, M., Corbo, V., Fasan, M., Mafficini, A., Malpeli, G., Lawlor, R. T., Scarpa, A. (2013). DNA qualification workflow for next generation sequencing of histopathological samples. *PLoS ONE*, 8(6), e62692.
- Tan, S. C., & Yiap, B. C. (2009). DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 574398.
- Varma, A., Padh, H., & Shrivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: An art or a science. *Biotechnology Journal*, 2(3), 386–392.
- Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi, R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing. *BioTechniques*, 10(4), 506–513.
- Wilson, K., & Walker, J. (2010). *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology* (7th ed.). Cambridge University Press.