
The Effect of Micro Radiation on Microbial DNA

Pengaruh Radiasi Mikro Terhadap DNA Mikroba

Nurul Pratiwi, Cindy Pramila, Fira Safitri, Syifa Kamila Namidya, Dwi Hilda Putri*

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: dwihildaputri.08@gmail.com

Abstract

One of the important steps in molecular studies is DNA extraction. Many methods have been developed for bacterial DNA extraction, using either kits or boiling techniques. For the boiling technique, heating can be done using a water bath, heatblock, and microwave. Microwave is a tool that uses micro radiation rays. This study aims to determine the effect of microwave irradiation on bacterial DNA. The isolates used in this study were B.J.T.A.2.1 isolates which were inoculated into NB medium. Microwave exposure was carried out for 0, 30, and 90 seconds. Cultures were isolated using the *QIAamp DNA Mini Kit*. The quality of DNA after exposure to the microwave was analyzed from the electrophoretic DNA bands of PCR RAPD products. Microwave exposure of bacteria causes changes to DNA. PCR RAPD reaction using isolated DNA from bacteria exposed to microwaves produces new bands on electrophoresis results. The longer the bacteria are exposed to the microwave, the brighter and thicker the new DNA banding pattern will be. Microwave exposure to bacterial culture affects the isolated DNA. The longer the culture is exposed to the microwave, the brighter and thicker the new DNA banding pattern will be.

Keywords: *Microwave, Molecular, DNA, Bacteria*

Abstrak

Salah satu tahapan penting dalam kajian molekuler adalah ekstraksi DNA. Banyak metode yang sudah dikembangkan untuk ekstraksi DNA bakteri, baik menggunakan kit maupun teknik *boiling*. Untuk teknik *boiling* pemanasan bisa dilakukan menggunakan *waterbath*, *heatblock*, dan *microwave*. *Microwave* merupakan salah satu alat yang memanfaatkan sinar radiasi mikro. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyinaran *microwave* terhadap DNA bakteri. Isolat yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat B.J.T.A.2.1 yang diinokulasikan ke medium NB. Pemaparan dengan *microwave* dilakukan selama 0, 30, dan 90 detik. Kultur diisolasi menggunakan *QIAamp DNA Mini Kit*. Kualitas DNA setelah pemaparan dengan *microwave* dianalisis dari pita DNA hasil elektroforesis produk PCR RAPD. Pemaparan bakteri dengan *microwave* menyebabkan perubahan pada DNA. Reaksi PCR RAPD menggunakan DNA hasil isolasi dari bakteri yang terpapar *microwave* menghasilkan pita baru pada hasil elektroforesis. Semakin lama bakteri dipaparkan *microwave*, semakin terang dan tebal pola pita DNA baru yang dihasilkan. Pemaparan kultur bakteri menggunakan *microwave* mempengaruhi DNA hasil isolasi. Semakin lama kultur dipaparkan *microwave*, semakin terang dan tebal pola pita DNA baru yang dihasilkan.

Kata kunci: *Microwave, Molekuler, DNA, Bakteri*

Pendahuluan

Eksplorasi senyawa aktif antimikroba dari bakteri banyak dilakukan saat ini. Beberapa bidang yang memanfaatkan potensi senyawa aktif bakteri adalah bidang industri, kesehatan dan farmasi (Afriani *et al.*, 2017; Dwijendra, 2014; Mujipradhana, 2018). Seperti pemanfaatan bakteri asam laktat sebagai kultur starter probiotik dan penghasil bakteriosin (Putra & Fevria, 2018) serta pemanfaatan ekstrak bakteri endofit Andalas sebagai obat kumur (Putri *et al.*, 2019). Dalam pengembangannya menjadi produk bioteknologi yang dapat diproduksi skala besar, senyawa aktif antimikroba perlu dianalisis lebih lanjut. Analisis dilakukan untuk mengkarakterisasi dan identifikasi bakteri. Analisis sederhana dilakukan melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji reaksi biokimia. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi koloni bakteri, meliputi bentuk koloni, ukuran koloni, warna koloni, dan bentuk tepian koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan Gram dan pengamatan bentuk sel bakteri (Fitri & Yasmin, 2011; Fitriani *et al.*, 2016). Pendekatan lain dapat dilakukan melalui analisis molekuler.

Pemanfaatan analisis molekuler telah banyak digunakan. Analisis molekuler dalam pengembangan potensi bakteri dalam bidang bioteknologi diantaranya analisis konservasi molekuler, rekayasa genetika, dan analisis ekspresi protein (Gordon, 2003; Niemann & Kues, 2000). Salah satu tahapan penting dalam kajian molekuler adalah ekstraksi DNA. Banyak metode yang sudah dikembangkan untuk ekstraksi DNA bakteri yaitu menggunakan kit, metode fenol-kloroform maupun teknik boiling (Dashti *et al.*, 2009; Handayani & Putri, 2021). Teknik boiling menggunakan prinsip pemanasan suhu tinggi yang merusak permeabilitas dinding sel (Afif & Putri, 2019). Pemanasan juga harus dilakukan dengan waktu inkubasi yang tepat. Waktu pemanasan singkat menyebabkan lisis membran tidak sempurna. Sementara waktu lama dapat merusak DNA (Ruchi *et al.*, 2019). Untuk teknik boiling, pemanasan bisa dilakukan menggunakan *waterbath*, *heatblock*, dan *microwave*.

Microwave merupakan salah satu alat yang menghasilkan energi panas. Dalam pengoperasiannya *microwave* memanfaatkan sinar radiasi mikro yang menyebabkan molekul bermuatan listrik bergerak. DNA merupakan molekul yang bermuatan listrik. Gerakan tersebut menimbulkan gesekan, yang menimbulkan energi panas (V. V. Handayani, 2020; Nur'aini, 2015; UCSB Science Line, 2009). Energi panas tersebut dapat dimanfaatkan menjadi salah satu cara untuk mengisolasi DNA bakteri. Pada umumnya isolasi DNA bakteri dilakukan pemanasan pada suhu di atas optimum dapat menyebabkan lisis bahkan kematian pada sel mikro (Baharuddin *et al.*, 2014).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, gelombang sinar radiasi mikro dapat mempengaruhi morfologi, permeabilitas membran, ekspresi total protein bakteri, dan inaktivasi enzim (Cao *et al.*, 2018; Shahin *et al.*, 2015). Bahkan dapat merusak struktur DNA hingga menyebabkan bakteri mati, degradasi, dan mengalami mutasi (Najmina *et al.*, 2014; Rahi *et al.*, 2012). Namun, mutasi juga memiliki dampak positif. Berdasarkan penelitian Mitri *et al.* (2022), mutasi pada bakteri dapat meningkatkan aktivitas antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyinaran *microwave* dalam terhadap DNA yang dihasilkan.

Bahan dan Metode

Kultur Bakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini merupakan isolat bakteri endofit Andalas disimpan di Laboratorium Penelitian, Departemen Biologi, UNP dalam bentuk kultur stok dengan kode B.J.T.A.2.1. Kultur stok ini disimpan dalam bentuk biakan miring pada suhu 4°C. Isolat bakteri dikultur dengan menginokulasikan sebanyak 2-3 ose ke dalam medium NB, selanjutnya diinkubasi menggunakan *Shaker Inkubator* dengan kecepatan 250 rpm dan suhu 37°C selama 12 jam.

Pemaparan *Microwave*

Kultur cair bakteri diletakkan ke 3 *petridish* berbeda. Masing – masing kultur dipaparkan *microwave* selama 30 detik dan 90 detik. 1 *petridish* tidak dipaparkan *microwave* dijadikan sebagai kontrol. Setiap *petridish* dicuplik masing-masing 1 mL ke *microtube*.

Metode Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan menggunakan *QIAamp DNA Mini Kit*. Diawali dengan pemisahan kultur bakteri dengan medium menggunakan *sentrifuge*. Selanjutnya, kultur bakteri ditambahkan *Buffer ATL*, *Proteinase K*, dan *Buffer AL* untuk melisis sel. Campuran dipindahkan ke *spin colomm* dan dilakukan 3x pencucian menggunakan *Buffer AW1* dan *Buffer AW2*. Dilanjutkan proses delusi, dengan penambahan *Buffer AE* (Fitriyani *et al.*, 2022).

Uji Kemurnian DNA Bakteri

Uji kemurnian DNA bakteri dilakukan dengan menggunakan Nanofotometer. Sebanyak 2 μL Buffer AE diteteskan pada Nanofotometer sebagai blanko, selanjutnya dibersihkan menggunakan tisu. Kemudian sebanyak 2 μL sampel DNA dipipetkan. DNA berkualitas baik apabila pada kemurnian A260/A280 dalam rentang 1,8-2,0.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Konsentrasi sampel DNA yang diperoleh, disesuaikan terlebih dahulu hingga diperoleh konsentrasi 15 ng. Reaksi untuk satu kali amplifikasi dilakukan mengikuti protokol KOD FX NEO Toyobo dengan volume akhir sebanyak 10 μL . Komposisi reaksi PCR dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Reaksi PCR

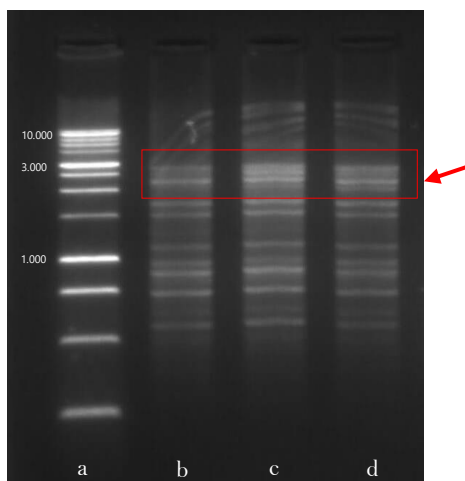
Komponen Reaksi	Volume per-tube(μL)	Jumlah Reaksi	Volume Mix PCR
Buffer KOD	5 μL	x3	15 μL
dNTPS	2 μL	x3	6 μL
Primer (OPA-04)	0,3 μL	x3	0,9 μL
KOD	0,2 μL	x3	0,6 μL
Nuclease-free water	1,5 μL	x3	4,5 μL
Sampel DNA	1 μL	<ul style="list-style-type: none">Vortex dan spin down mix PCRMembagi mix PCR @9 μL ke dalam 3 tube PCR yang telah diberilabelMenambahkan @DNA sampelVortex dan spin down	
Volume Total	10 μL		

Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Produk PCR divisualisasikan dalam gel agarose 1,5% menggunakan teknik elektroforesis. Gel agarose dibuat dengan melarutkan 1,5 gram bubuk agarose ke dalam 100 ml TAE 50x. Larutan di homogenkan dengan cara dipanaskan menggunakan *microwave* kemudian dimasukkan ke dalam cetakan. Tahap selanjutnya gel agarose yang telah terbentuk dimasukkan ke dalam bak elektroforesis. 5 μL produk PCR kemudian ditambahkan dengan 1 μL loading dye dan 5 μL gel red dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam well. Elektroforesis dilakukan selama 40 menit pada tegangan konstan 100 volt. Setelah elektroforesis selesai, gel diambil kemudian untuk divisualisasi menggunakan gel doc.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh lama paparan *microwave* terhadap kualitas DNA. Kualitas DNA ditentukan berdasarkan pola pita yang dihasilkan PCR RAPD. Pola pita divisualisasikan melalui elektroforesis. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Visualisasi PCR RAPD. (a) Ladder 1kb; (b) tanpa pemaparan; (c) 30 detik; (d) 90 detik Panah merah menunjukkan bagian hasil elektroforesis yang memiliki pita DNA yang berbeda

Berdasarkan Gambar 1. dapat diketahui bahwa lama pemaparan *microwave* berpengaruh terhadap pola pita DNA yang dihasilkan. Semakin lama dipaparkan *microwave*, pola pita DNA mengalami penambahan *band*.

Microwave dalam pengoperasiannya memanfaatkan sinar radiasi mikro (V. V. Handayani, 2020). Sinar radiasi mikro termasuk radiasi elektromagnetik (non-pegion) (Zubaidah & Yanti, 2001). DNA merupakan molekul yang bermuatan listrik. Adanya gelombang mikro menyebabkan molekul dengan muatan listrik bergerak, sehingga menimbulkan gesekan. Akibat dari gesekan tersebut terbentuklah energi panas (*UCSB Science Line*, 2009).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, gelombang sinar radiasi mikro dapat mempengaruhi morfologi, permeabilitas membran, ekspresi total protein bakteri, dan inaktivasi enzim (Cao *et al.*, 2018; Shahin *et al.*, 2015). Bahkan dapat merusak struktur DNA hingga menyebabkan bakteri mati, degradasi, dan mengalami mutasi (Najmina *et al.*, 2014; Rahi *et al.*, 2012). Menurut penelitian Kim *et al.* (2008), gelombang mikro mampu menghancurkan membran dan dinding *Bacillus cereus*. Pada DNA, radiasi gelombang mikro menyebabkan pemutusan ikatan kovalen DNA, yang berakibat terjadinya mutasi DNA.

Daftar Pustaka

- Afif, R., & Putri, D. H. (2019). 16S rRNA Gene Amplification Of Endophytic Bacteria Which Produces Antimicrobial Compounds. *Serambi Biologi*, 4.
- Afriani, N., Yusmarini, Y., & Pato, U. (2017). Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*, 4(2), 1–12.
- Baharuddin, M., Patong, A. R., Ahmad, A., & La Nafie, N. (2014). Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Hidrolisis Cmc oleh Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Larva Kupu-Kupu *Cossus Cossus*. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 8(3), 343–356.
- Cao, J.-X., Wang, F., Li, X., Sun, Y.-Y., Wang, Y., Ou, C.-R., Shao, X.-F., Pan, D.-D., & Wang, D.-Y. (2018). The Influence of Microwave Sterilization on the Ultrastructure, Permeability of Cell Membrane and Expression of Proteins of *Bacillus Cereus*. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9). <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01870>
- Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., & Dashti, H. M. (2009). Heat treatment of bacteria: a simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Med J*, 41(2), 117–122.
- Dwijendra, I. M. (2014). Aktivitas Antibakteri dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spons *Lamellodysidea herbacea* yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmakon*, 3(4).
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 20–25.
- Fitriani, F., Meylina, L., & Rijai, L. (2016). Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil antibiotik dari tanah sawah. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 4, 125–132.
- Fitriyani, R., Achyar, A., & Robiansyah, I. (2022). *Tropical genetics*. 2(1), 17–21.
- Gordon, I. (2003). *Laboratory production of cattle embryos* (Vol. 27). Cabi.
- Handayani, S. O., & Putri, D. H. (2021). Comparison of Fenol-Kloroform Method and Mini-Prep CTAB Method for Chili (*Capsicum annum* L.) Plant DNA Isolation. *Serambi Biologi*, 6(2), 37–41.
- Handayani, V. V. (2020). *Benarkah Penggunaan Microwave Bisa Sebabkan Kanker?* <https://www.halodoc.com/artikel/benarkah-penggunaan-microwave-bisa-sebabkan-kanker>
- Kim, S., Jo, E., Kim, H., Bai, K., & Park, J. (2008). The effects of high-power microwaves on the ultrastructure of *Bacillus subtilis*. *Letters in Applied Microbiology*, 47(1), 35–40.
- Mitri, A., Pratiwi, N., Fadillah, S. H., & Putri, D. H. (2022). Antituberculosis Effectiveness Of Endophytic Andalas Mutant Bacteria Produces Induced By Uv Light Will Be Conducted. *GENETIKA*, 1(01).
- Mujipradhana, V. N. (2018). Aktivitas antimikroba dari ekstrak ascidian *herdmania momus* pada mikroba patogen manusia. *Pharmakon*, 7(3).
- Najmina, R. L., Darmawan, S., Rifa'i, M. H., Fauzy, M. I. B., & Suwandi, I. (2014). Pasteurisasi Susu menggunakan Gelombang Mikro untuk meningkatkan Mutu Produk UMKM "Natural Probiotik." *Indonesian Ministry of Research, Technology and Higher Education*, 1–6.
- Niemann, H., & Kues, W. A. (2000). Transgenic livestock: premises and promises. *Animal Reproduction Science*, 60, 277–293.
- Nur'aini, F. D. (2015). *Generasi Peneliti*. <https://generasipeneliti.id/tulisan.php?id=ID60vTy3kYqHUL&judul=Bagaimana-Prinsip-Kerja-Gelombang-Mikro-pada-Microwave-dan-Siapa-Penemunya?>
- Putra, R. W., & Fevria, R. (2018). Isolation and Identification of Probiotic Candidate Lactic Acid Bacteria (Lab) from Shrimp Paste (*Mysis relicta*) Based on 16s rRNA Gene. *Bioscience*, 2(1), 64–71.
- Putri, D. H., Rahayu, R., Sahara, D., Nurhelmi, N., & Violita, V. (2019). Antimicrobial Activities of Extract of Andalas Endophytic Bacterial Fermentation Products in Overcoming Oral Cavity Infection. *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA (E-ISSN: 2549-7464)*, 20(2), 106–111.

- Rahi, G. S., Lodhi, K., Grier, R., Adams, J., & Torrez, A. (2012). *Effects of Microwave Radiation on Human DNA Degradation*.
- Ruchi, W., Putri, D. H., & Anhar, A. (2019). Comparison of Three Different DNA Isolation Methods To Degrade The Trichoderma Fungi Cell Wall. *Bioscience*, 3(1), 50. <https://doi.org/10.24036/0201931102859-0-00>
- Shahin, S., Banerjee, S., Singh, S. P., & Chaturvedi, C. M. (2015). 2.45 GHz microwave radiation impairs learning and spatial memory via oxidative/nitrosative stress induced p53-dependent/independent hippocampal apoptosis: molecular basis and underlying mechanism. *Toxicological Sciences*, 148(2), 380–399.
- UCSB Science Line. (2009). Scienceline. <http://scienceline.ucsb.edu/getkey.php?key=1940>
- Zubaidah, A., & Yanti, L. (2001). Efek Kesehatan Radiasi Non Pengion Pada Manusia. *Prosiding SNKKL 2001*.