

OPTIMASI VARIASI VOLTASE DAN WAKTU TERHADAP KUALITAS PITA DNA *ESCHERICHIA COLI* PADA PROSES ELEKTROFORESIS GEL AGAROSA

*Optimization of Voltage and Time Variations on the Quality of Escherichia Coli
DNA Bands in the Agarose Gel Electrophoresis Process*

**Afifah Nur Amani Putri^{1*}, Asep Iin Nur Indra² Fusvita Merdekawati³ Yogi
Khoirul Abror**

^{1*}Program Studi Sarjana terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis,
Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung,

Email: afifahp41@gmail.com¹, asepiinurindra@gmail.com²,
fusvitamerdekawati@gmail.com³, yogiabror@gmail.com

ABSTRACT

Background: *Escherichia coli* is one of the causes of foodborne illness. Conventional PCR is a PCR method that is carried out qualitatively followed by visualization on agar electrophoresis. Agarose gel electrophoresis is a technique that is often used in various fields of science to separate a mixture of DNA on agarose substrate. This method is used to perform qualitative analysis of DNA samples. In electrophoresis, there are factors that affect the movement of DNA molecules, one of which is voltage. In addition, the length of time of the electrophoresis process can also affect the effectiveness of the results and the rate of migration. When the electrophoresis process time is short, large DNA fragments still tend to stick. **Purpose:** Therefore, it is necessary to balance the voltage and time given to get good DNA banding results. **Methods:** The research unit that will be used is the result of amplification of *Escherichia coli* 16SrRNA gene DNA measuring 584 bp. The electrophoresis process was carried out with voltage variations of 50, 100, 150 volts and time variations of 30, 45, 60 minutes. Observation of electrophoresis results that have formed DNA bands will be measured the area of DNA bands using ImageJ application. **Conclusion:** Based on the results of the study concluded that: The optimum voltage in the electrophoresis process in obtaining good *E.coli* DNA bands is at a voltage of 150 volts. The optimum time in the electrophoresis process in obtaining good *E.coli* DNA bands is for 30 minutes.

Keywords: *Escherichia coli*, Electrophoresis, optimum voltage, optimum electrophoresis process time.

ABSTRAK

Pendahuluan: *Escherichia coli* termasuk salah satu penyebab penyakit yang berasosiasi dengan pangan (*foodborne illness*). PCR konvensional yaitu metode PCR yang dilakukan secara kualitatif dengan dilanjutkan visualisasi pada agar elektroforesis. Elektroforesis gel agarosa merupakan teknik yang sering digunakan

<https://doi.org/10.34011/jks.v5i2.2388>

dalam berbagai bidang ilmu untuk memisahkan suatu campuran DNA pada substrat agarosa. Metode ini digunakan untuk melakukan analisis kualitatif terhadap sampel DNA. Pada elektroforesis terdapat faktor yang mempengaruhi pergerakan molekul DNA salah satunya yaitu voltase. Selain itu lama waktu proses elektroforesis juga dapat memengaruhi efektivitas hasil dan laju migrasinya. Ketika waktu proses elektroforesis singkat, fragmen DNA yang berukuran besar masih cenderung melekat. **Tujuan:** Oleh karena itu, perlu keseimbangan antara tegangan listrik dan waktu yang diberikan untuk mendapatkan hasil pita DNA yang baik. **Metode:** Unit penelitian yang akan digunakan yaitu hasil amplifikasi DNA gen *16SrRNA Escherichia coli* yang berukuran 584 bp. Proses elektroforesis dilakukan dengan variasi voltase 50, 100, 150 volt dan variasi waktu 30, 45, 60 menit. Pengamatan hasil elektroforesis yang telah membentuk pita DNA akan diukur luas area pita DNA menggunakan aplikasi ImageJ. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa: Voltase yang optimum pada proses elektroforesis dalam mendapatkan pita DNA E.coli yang baik yaitu pada tegangan 150 volt. Waktu yang optimum pada proses elektroforesis dalam mendapatkan pita DNA E.coli yang baik yaitu selama 30 menit.

Kata kunci: *Escherichia coli*, Elektroforesis, Voltase yang optimum, lama waktu proses elektroforesis yang optimum.

PENDAHULUAN

PCR merupakan suatu teknik deteksi dengan memanfaatkan amplifikasi DNA atau gen target pada organisme asing yang terdapat dalam penyintas infeksi tertentu. Saat ini, salah satu penyakit infeksi yang dapat memanfaatkan metode PCR adalah deteksi cemaran *Escherichia coli* (*E.coli*) pada pasien yang diare atau keracunan makanan. Proses PCR dimulai dari isolasi asam nukleat dari matriks sampel yang bertujuan untuk memperoleh DNA target dengan kemurnian yang tinggi. Proses selanjutnya adalah amplifikasi, proses ini melibatkan siklus berulang dengan 3 tahap, yaitu denaturasi, *annealing* dan *extension*. Setelah mendapatkan hasil PCR konvensional, maka dilanjutkan dengan proses elektroforesis. Hasil elektroforesis yang terlihat adalah terbentuknya pita (*band*) yang diperoleh dari DNA hasil amplifikasi

(amplikon) yang telah bermigrasi dan diwarnai dengan pewarna tertentu.

Dalam beberapa penelitian, diketahui bahwa hasil proses elektroforesis dapat terpengaruh oleh tingginya tegangan listrik yang menyebabkan hasil pita DNA yang *smear*. Selain itu Durasi waktu pada tahap elektroforesis juga dapat memengaruhi efektivitas hasil elektroforesis dan laju migrasinya (elektromobilitas). Ketika waktu proses elektroforesis singkat, fragmen-fragmen DNA yang berukuran besar masih cenderung saling melekat. Oleh karena itu, perlu keseimbangan antara tegangan listrik dan durasi waktu yang diberikan untuk mendapatkan hasil pita DNA yang baik.

Pada gen DNA *Mycobacterium tuberculosis* sudah diketahui voltase

dan waktu proses elektroforesis yang optimum. Namun, hasil tersebut belum tentu sama dengan gen DNA lainnya. Dalam membuktikan hal tersebut untuk mendapatkan hasil pita DNA *Escherichia coli* yang baik, maka harus dilakukan pengetahuan voltase dan waktu yang tepat dalam mengukur hasil pita DNA *Escherichia coli*. Pengetahuan tersebut dapat dilakukan dengan cara dilakukan memvariasikan voltase dan waktu yang berbeda dengan DNA target *16SrRNA Escherichia coli*. Dilakukannya variasi voltase dan waktu yang berbeda guna untuk mengetahui voltase dan waktu yang optimum terhadap hasil pita DNA *E.coli* pada proses elektroforesis.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu Kuasi Eksperimen. Desain penelitian ini dilakukan dengan melihat kualitas pita DNA yang dihasilkan dari proses elektroforesis dengan variasi tegangan listrik 50 volt, 100 volt dan 150 volt dengan variasi lama waktu 30, 45, dan 60 menit. Hasil pita DNA yang terbentuk akan dianalisis dengan bantuan aplikasi *ImageJ*. Unit penelitian yang akan digunakan yaitu DNA gen *16SrRNA Escherichia coli* yang berukuran 584 bp. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi molekuler kampus jurusan teknologi laboratorium medis poltekkes kemenkes bandung.

Prosedur pengumpulan data didapatkan dari hasil pengukuran kualitas pita DNA hasil variasi voltase dan waktu yang telah ditentukan secara optimal. Hasil tersebut merupakan hasil visualisasi DNA dari *uv-transluminator* dan diukur

menggunakan aplikasi *ImageJ*. Berikut matriks penelitian:

Tabel 1 Matriks Penelitian

Percobaan I	Percobaan II	Percobaan III
A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	A ₃ B ₁
A ₁ B ₂	A ₂ B ₂	A ₃ B ₂
A ₁ B ₃	A ₂ B ₃	A ₃ B ₃

Keterangan:

A= Voltase	B= Waktu
A ₁ = 50 volt	B ₁ = 30 menit
A ₂ = 100 volt	B ₂ = 45 menit
A ₃ = 150 volt	B ₃ = 60 menit

Data yang akan digunakan yaitu data primer yang akan diperoleh dari pengukuran kualitas pita DNA hasil elektroforesis dengan variasi voltase dan waktu yang optimum dan telah diukur menggunakan aplikasi *ImageJ*.

Alat yang digunakan yaitu tabung ependof 1,5 ml, VB *column, collection tube* mikropipet 10, 200 dan 1000 uL, spatula, vortex, labu erlenmeyer, gelas ukur, mikropipet, tip sesuai ukuran, alat PCR (*thermal cycler*), *hot plate*, timbangan digital, alat elektroforesis, *comb* atau sisir, tray, *uv-transluminator*, kamera. Lalu, bahan yang digunakan yaitu Biakan *Escherichia coli* dalam media cair, *Geneaid Viral Nucleic Acid Extraction Kit II, Go Taq Green Master Mix 2x Promega, Primer 16E1, Primer16E2*, serbuk agarosa, *Gel red*, TAE buffer stok 50x, DNA template *E.coli*, DNA marker, akuades

1. Isolasi DNA metode *spin column*
Sampel *Escherichia coli* dari biakan TSB (*Tripticase Soy Broth*)

dimasukan 200 uL kedalam 1,5 mL tabung microsentrifuse. Ditambahkan 400 uL Vb Lysis Buffer kedalam sampel lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. AD Buffer ditambahkan 450 uL kedalam sampel yang telah berisi etanol. Campuran lisat sebanyak 600 uL dipindahkan kedalam VB Column. Disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 14-16.000 rpm. Supernatan dibuang, lalu ditempatkan kembali VB Column kedalam 2mL collection tube. Campuran yang tersisa dipindahkan ke VB Column. Disentrifugasi kembali selama 1 menit pada 14-16.000 rpm. Supernatan dibuang, lalu VB Column dipindahkan kedalam Collection tube 2mL yang baru. W1 Buffer sebanyak 400 uL ditambahkan kedalam VB Column. Disentrifugasi selama 30 detik pada 14-16.000 rpm. Supernatan dibuang dan dimasukan kembali VB Column kedalam Collection tube 2 mL. Wash buffer sebanyak 600 uL ditambahkan kedalam VB Column yang telah ditambahkan etanol. Disentrifugasi selama 30 detik pada 14-16.000rpm. Supernatan dibuang dan dimasukan kembali VB Column kedalam Collection tube 2 mL. Disentrifugasi kembali selama 3 menit pada 14-16.000 rpm guna mengeringkan matriks dalam VB Column. Dipindahkan VB Column yang telah kering kedalam collection tube baru RNase Free Water sebanyak 50 uL ditambahkan ke bagian tengah matriks VB column. Didiamkan minimal 3 menit agar RNase Free Water dapat terserap oleh matriks. Lalu, disentrifugasi selama 1 menit pada 14-16.000 rpm untuk mengelusi asam nukleat murni.

2. Amplifikasi DNA *Escherichia coli*

Dicairkan Go Taq Master Mix dan Nuclease Free pada suhu ruang. Reagen divortex 3-5 detik untuk homogenisasi. Larutan dispindown guna menurunkan larutan yang menempel pada dinding. Ditentukan jumlah reaksi yang akan digunakan (4x reaksi). Reagen master mix disiapkan (reagen yang disiapkan disesuaikan dengan jumlah yang akan digunakan)

Tabel 2 komponen PCR master mix untuk 50 uL vol/reaksi

Komponen	Volume/reaksi	4x Reaksi
Go Taq® Green Master mix., 2X	25 uL	100 uL
Primer <i>Forward</i>	1 uL	4 uL
Primer <i>Reverse</i>	1 uL	4 uL
Nuclease Free Water add to 50 uL	18 uL	72 uL
DNA template	5 uL	20 uL

Disiapkan 4 tabung PCR microtube. Reagen master mix sebanyak 45 uL dimasukan ketiap PCR *microtube*. Ditambahkan 5 uL DNA template ketiap PCR *microtube*. *Microtube* ditutup dan dilakukan vortex agar homogen. Dilakukan spindown guna menurunkan larutan yang menempel pada dinding. Lalu dijalankan alat PCR.

3. Pembuatan gel agarosa 1,5%

Ditimbang 0,6 gram bubuk agarosa dengan neraca analitik. Agarosa dilarutkan dalam 40mL TAE Buffer 1x dalam labu Erlenmeyer 250mL. Dipanaskan diatas *hotplate* hingga larut dan dihomogenkan hingga terlihat jernih. Larutan gel agarosa didinginkan hingga hangat kuku. Disiapkan baki elektroforesis, lalu diletakkan selotip pada ujung-ujung baki elektroforesis.

Larutan dimasukkan kedalam *tray* yang telah dipasang comb atau sisir secara perlahan hingga tidak terbentuk gelembung. Ditunggu hingga membentuk gel agarose lalu *Comb* diambil dengan hati-hati

4. Proses Elektroforesis

Disiapkan elektroforesis apparatus. Dimasukan gel agarosa yang telah dibuat kedalam tangki atau wadah elektroforesis. Larutan TAE Buffer 1x ditambahkan kedalam tangki hingga seluruh permukaan gel agarosa tertutup. Dipipet sebanyak 5 µL masing-masing sampel DNA dan DNA marker dan dimasukkan kedalam *well*. Kabel dihubungkan dari sumber arus ke tangki elektroforesis. Proses elektroforesis gel agarosa dijalankan hingga selesai. Daya listrik dimatikan jika proses elektroforesis telah selesai. Diangkat dan ditiriskan gel agarosa hasil proses elektroforesis (Steward, 2022). Gel agarosa direndam pada larutan EtBr 0,02% selama 15 menit. Gel dikeluarkan dari baki pewarnaan dan diletakan pada *Uv-Transluminator* Penggunaan voltase dan Waktu pada proses elektroforesis sesuai dengan matriks yang sudah ada. Jika telah selesai gel agarosa diletakkan diatas alat uv-transluminator pada ruang yang gelap, lalu nyalakan lampu uv. Dilakukan dokumentasikan hasil pita yang terbentuk menggunakan kamera.

Dianalisis dengan menggunakan software imageJ untuk diukur ketebalan band DNA yang telah dihasilkan.

5.

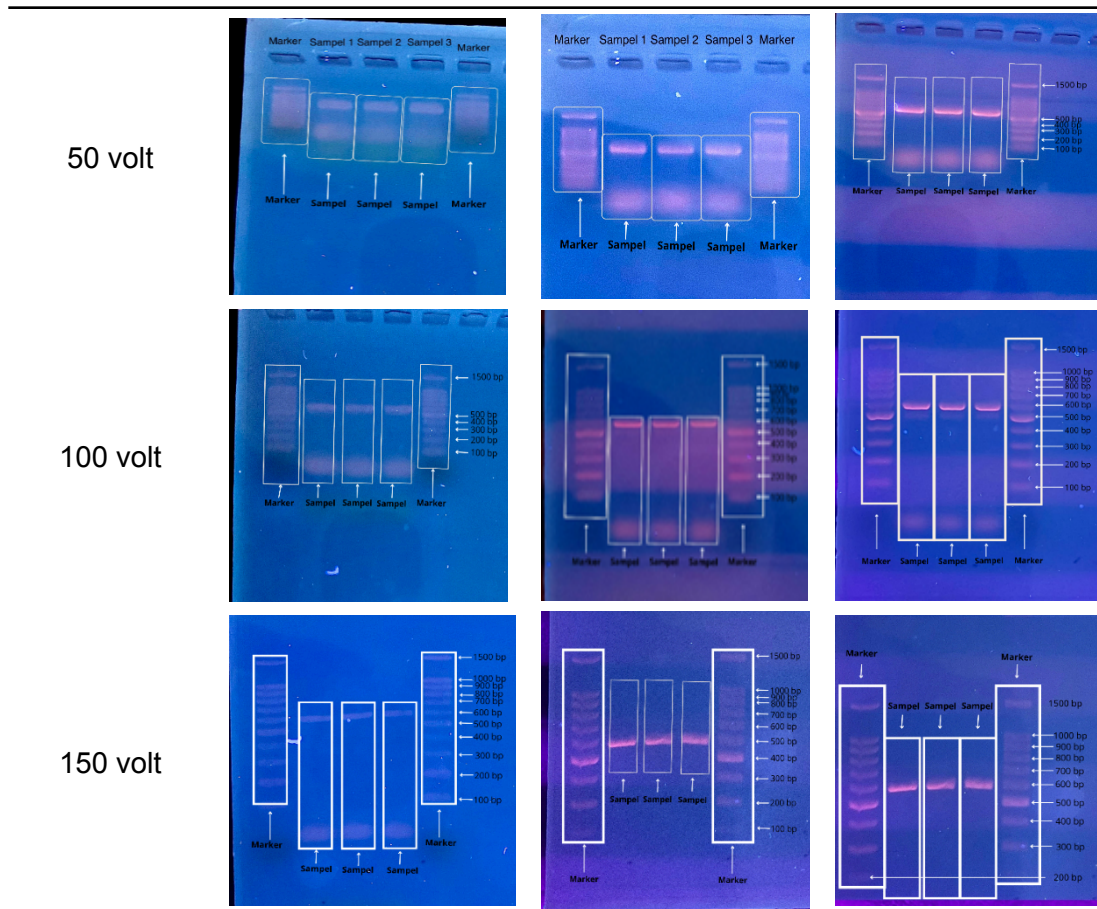
HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil pita DNA yang terbentuk, dimana pada voltase rendah dengan waktu yang cukup singkat fragmen-fragmen DNA masih terlihat menempel satu sama lain, namun pada hasil pita DNA dengan voltase yang tinggi dapat menyebabkan *smear* pada pita DNA.

Berikut merupakan hasil pita DNA dengan variasi voltase dan waktu yang telah ditentukan:

Tabel 2 Hasil Visualisasi Elektroforesis Gel Agarosa

Voltase	30 menit	Waktu 45 menit	60 menit



Pada Gambar 1 menunjukkan visualisasi hasil elektroforesis *E.coli* pada variasi voltase yang dimulai dari 50 volt, 100 volt dan 150 volt dengan variasi waktu yang digunakan yaitu 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Pada hasil penelitian proses elektroforesis yang dijalankan dengan tegangan listrik 50 volt dengan variasi waktu tersebut terlihat fragmen-fragmen DNA yang relatif menempel satu dengan yang lain sehingga *base pair* belum dapat ditentukan dan pita DNA yang dihasilkan belum terlihat dengan jelas.

Sedangkan pada tegangan listrik 100 pada waktu 30 menit beberapa fragmen masih menempel

satu sama lain, pada variasi waktu 45 menit fragmen DNA yang dihasilkan sudah tidak menempel satu dengan yang lain dan pita DNA terlihat tegas. Begitu pula dengan variasi waktu 60 menit, proses elektroforesis dengan tegangan 100 volt selama 60 menit fragmen DNA terlihat lebih jelas terpisah dan membentuk pita DNA yang lebih tegas.

Pada variasi voltase 150 volt dengan variasi waktu yang dimulai selama 30 menit sudah terlihat jelas dan tegas, namun pada variasi waktu 45 dan 60 pada tegangan ini pita DNA membentuk *smile effect*. Lalu, pada tegangan 150 volt selama 60 menit terlihat bahwa fragmen DNA semakin

menjauh dari *well* dan melebihi batas gel agarosa.

Selain dari hasil visualisasi proses elektroforesis, terdapat hasil

pengukuran luas area menggunakan aplikasi *ImageJ*. Berikut hasil pengukuran hasil luas area dari hasil visualisasi yang telah didapat:

Tabel 3 Hasil Pengukuran Luas Area Pita DNA *E.coli* Variasi Voltase 50 volt, 100 volt dan 150 volt Selama 30 menit.

Voltase	Luas Area Pita DNA			Persentase (%)		
	Pengulangan			Pengulangan		
	1	2	3	1	2	3
50 volt	10.890.639	10.310.535	9.653.364	57.750%	55.621%	42.123%
100 volt	10.586.632	11.182.593	11.406.488	49.715%	52.362%	53.325%
150 volt	14.701.417	15.215.818	14.891.283	64.473%	77.080%	65.724%

Tabel 4 Hasil Pengukuran Luas Area Pita DNA *E.coli* Variasi Voltase 50 volt, 100 volt dan 150 volt Selama 45 menit.

Voltase	Luas Area Pita DNA			Persentase (%)		
	Pengulangan			Pengulangan		
	1	2	3	1	2	3
50 volt	10.570.304	9.968.304	10.458.534	50,470%	48.325%	50.021%
100 volt	11.958.235	11.520.398	12.407.374	56.146%	53.928%	57.581%
150 volt	13.012.343	15.613.914	15.393.436	37.850%	41.588%	41.339%

Tabel 5 Hasil Pengukuran Luas Area Pita DNA *E.coli* dengan Variasi Voltase 50 volt, 100 volt dan 150 volt Selama 60 menit.

Voltase	Luas Area Pita DNA			Persentase (%)		
	Pengulangan			Pengulangan		
	1	2	3	1	2	3
50 volt	12.703.727	12.589.142	12.189.667	58.366%	57.755%	57.138%
100 volt	15.674.577	15.679.391	15.404.252	78.185%	78.264%	77.262%
150 volt	15.570.532	16.217.088	16.168.865	41.317%	42.877%	42.799%

Dari hasil kuantifikasi pengukuran luas area dapat terlihat bahwa pada variasi voltase 50 dengan variasi waktu 30, 45 dan 60 menit dengan pengulangan didapatkan hasil

dengan rentan yang rendah. Sedangkan pada variasi voltase 100 semakin lama waktu yang digunakan nilai yang didapat semakin tinggi. Lalu, pada variasi voltase 150 dari nilai

yang didapat tidak berbeda jauh, hal ini dikarenakan dari lama waktu 30 menit fragmen DNA telah memisah dengan baik. Namun pada tegangan ini pula terlihat bahwa hasil visualisasi dari variasi waktu 45 dan 60 menit telah terjadi *smear* hal ini dapat mempengaruhi hasil luas area yang didapat. Dari hasil luas area pita DNA tersebut dapat diartikan bahwa semakin besar nilai luas area maka pita DNA yang dihasilkan semakin baik (Lukemiller, 2010).

PEMBAHASAN

Berdasarkan beberapa penemuan pada penelitian ini, diketahui bahwa tegangan listrik pada proses elektroforesis sangat berpengaruh pada hasil pita DNA, selain itu lama waktu proses elektroforesis juga berperan penting dalam menyesuaikan tegangan listrik yang digunakan. Jika menggunakan tegangan listrik yang rendah maka dapat menggunakan waktu yang cukup lama, sebaliknya jika menggunakan tegangan listrik yang tinggi maka waktu proses elektroforesisnya harus lebih di persingkat.

Hal ini dapat dilihat pada hasil proses elektroforesis yang menggunakan tegangan listrik 50 volt. Hasil dari proses elektroforesis dengan tegangan 50 volt dengan beberapa variasi waktu terlihat bahwa fragmen-fragmen DNA yang terbentuk masih relatif menempel satu sama lain. Hal tersebut disebabkan karena pada proses elektroforesis menggunakan tegangan listrik yang rendah.

Selain itu, dapat terlihat pada hasil visualisasi variasi tegangan listrik

100 dengan variasi waktu selama 30 menit bahwa pita DNA yang dihasilkan sudah terbentuk namun fragmen-fragmen DNA belum terpisah sempurna. Hal ini dapat disebabkan karena waktu yang digunakan cukup singkat.

Lalu, dapat dilihat pada hasil penelitian proses elektroforesis dengan tegangan 150 volt, dimana didapatkan hasil semakin lama proses elektroforesis yang dijalankan fragmen DNA menghilang. Hal ini dikarenakan semakin besar tegangan listrik maka semakin besar arus listrik dan semakin cepat muatan bermigrasi, sehingga proses elektroforesis semakin cepat membentuk pita DNA. Namun, tegangan yang terlalu tinggi dengan waktu proses elektroforesis yang cukup lama dapat merusak tatanan struktur DNA (Zain dkk, 2021).

Selain itu dapat dilihat pada hasil visualisasi dari hasil proses elektroforesis dengan tegangan 150 volt yang menggunakan waktu selama 45 menit dan 60 menit. Hasil yang terlihat menggambarkan terjadinya *smile effect* pada fragmen DNA yang terbentuk. Hal ini dapat disebabkan karena pada proses elektroforesis digunakan tegangan listrik yang tinggi dengan waktu yang cukup lama. Oleh karena itu, proses elektroforesis dengan menggunakan tegangan listrik yang tinggi dan waktu proses elektroforesis yang cukup lama akan merusak gel dan menghasilkan pita DNA yang dihasilkan tidak sempurna dan mengakibatkan terjadinya *smile effect* pada hasil elektroforesis (Halimah, 2023).

Smile effect dapat terjadi karena beberapa faktor, diantaranya tegangan yang besar, waktu proses elektroforesis yang singkat, kepadatan

gel agarosa yang tidak merata, adanya kotoran dalam gel agarosa dan perubahan arah medan listrik (Diah & Dini, 2018).

Dari hasil penelitian dengan variasi voltase dan waktu proses elektroforesis didapatkan berbagai macam karakteristik yang dapat dilihat dari hasil visualisasi. Dari hasil visualisasi yang terdapat fragmen yang masih relatif menempel hingga fragmen DNA yang telah melebihi batas permukaan agarosa. Hal ini dikarenakan pada proses elektroforesis dengan tegangan listrik yang rendah maka dorongan pada molekul DNA akan lambat, hal tersebut dapat menyebabkan fragmen DNA yang masih relatif rapat atau menempel satu sama lain. Jika proses elektroforesis dengan tegangan listrik yang tinggi maka dorongan pada molekul DNA akan semakin tinggi dan menyebabkan marker lebih dari batas atau dapat keluar dari gel agarosanya.

Setelah mendapatkan hasil visualisasi dari proses elektroforesis, maka dilakukan pemeriksaan lanjutan seperti uji kuantifikasi intensitas pita DNA dengan menggunakan aplikasi *ImageJ*. Uji kuantifikasi pada penelitian ini menggunakan aplikasi *ImageJ*, pada aplikasi *ImageJ* didapatkan hasil luas area dan persentase dari pita DNA yang dihasilkan. Hasil luas area dari aplikasi *ImageJ* menunjukkan seberapa besar pita DNA yang dihasilkan, oleh karena itu semakin besar luas area yang dihasilkan maka pita DNA yang dihasilkan semakin tebal (Lukemiller, 2010).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan pada percobaan dan pembahasan

dapat disimpulkan bahwa voltase yang optimum pada proses elektroforesis dalam mendapatkan pita DNA *E.coli* yang baik yaitu pada tegangan 100 volt. Lalu, waktu yang optimum pada proses elektroforesis dalam mendapatkan pita DNA *E.coli* yang baik yaitu selama 60 menit

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada keluarga, rekan, dosen pembimbing, dosen TLM Poltekkes Kemenkes Bandung dan seluruh informan Penelitian yang telah berkenan membantu dan memberikan dukungan dalam penulisan karya tulis ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Sjafaraenan, S., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., & Sabran, A. (2018). Profil Dna Gen Follicle Stimulating Hormone Reseptor (Fshr) Pada Wanita Akne Dengan Teknik Pcr Dan Sekuensing Dna. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.20956/bioma.v3i1.3909>
2. Ismaun, Muzuni, & Hikmah, N. (2021). Deteksi Molekuler Bakteri *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Penyakit Diare dengan Menggunakan Tehnik PCR Molecular. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 6(2), 1–9.
3. Anam, K., Cahyadi, W., Azmi, I., Senjarini, K., & Oktarianti, R. (2021). Analisis Hasil

- Elektroforesis DNA dengan Image Processing Menggunakan Metode Gaussian Filter. *IJEIS (Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems)*, 11(1), 37. <https://doi.org/10.22146/ijeis.58268>
4. Rumbiwati, & Trimuratno, J. (2021). Daur Ulang Limbah Gel Agarose untuk Efisiensi Reagen Elektroforesis ISSN 2655 4887 (Print), ISSN 2655 1624 (Online) ISSN 2655 4887 (Print), ISSN 2655 1624 (Online). *Indonesian Ournal Of Laboratory*, 4(3), 111–115.
 5. Indah, S. B. (2020). Polymerase Chain Reaction (Pcr) Untuk Identifikasi Gen Bfpa, Stx1, dan Stx2 dari Bakteri Escherichia coli yang terisolasi spesimen usap dubur penjamah Makanan. *Jurnal Medika Udayana*, 9(9), 32–33.
 6. Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. *IPB Press*, 1–151.
 7. Kusuma, A. B. (2022). Optimalisasi Ekstraksi DNA Dan PCR Untuk Identifikasi Molekuler Pada 4 Jenis Karang Lunak Berbeda. *Enggano*, 7(2), 175–182.
 8. Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1), 21–26. <https://doi.org/10.22373/crc.v2i1.3248>
 9. Artati, D., & Lubis, D. S. (2017). Optimasi Performa Dna Marker Pada Elektroforesis Gel. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 15(2), 47. <https://doi.org/10.15578/blta.152.2017.47-50>
 10. Putri, F. R., Annisa, N., Akyuni, Q., & ... (2022). Deteksi Bakteri Escherichia coli dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) pada Sampel Makanan Takjil. *Prosiding ...*, 405–413. Retrieved from <https://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/view/404%0Ahttps://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/download/404/382>
 11. Ester Fany Kandou, F. (2009). Analisis Molekuler Escherichia coli serotype O157:H7 Pada Air Minum Dalam Kemasan dan Isi Ulang Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan rfbE sebagai gen target. *Chem. Prog*, 2(1), 8–14.

12. Rohmana, A., Fuad, M., Ulfin, I., & Kurniawan, F. (2016). Penggunaan Agar-agar Komersial sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 5(2), 130–133.
13. Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>
14. Widayat, W., Winarni Agustini, T., Suzery, M., Ni'matullah Al-Baarri, A., & Rahmi Putri, S. (2019). Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan. *Indonesia Journal of Halal*, 2(1), 26. <https://doi.org/10.14710/halal.v2i1.5361>
15. Siallagan, C. S., Syafi'i, M., Samaullah, M. Y., Susanto, U., Pramudyawardani, E. furry, & Prastika, D. (2022). Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (*Oryza sativa* L) Menggunakan Marka SSR (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(8), 32–37. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6605393>
16. Purwakasih, D. B., & Achyar, A. (2021). Primer Design and in Silico PCR for Detection *Shigella* Sp. on Refilled Water Samples. *Serambi Biologi*, 6(1), 1–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
17. Kurniawati, M. D., Sumaryam, S., & Hayati, N. (2019). Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time-PCR untuk deteksi virus VVN (Viral Nervous Necrosis) Pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Techno-Fish*, 3(1), 19–30. <https://doi.org/10.25139/tf.v3i1.1629>
18. Fitri, R. R. A., . F., & Prasetyo, E. (2021). Perbandingan Metode Pcr Konvensional Dengan Metode Pcr Portable Kit Untuk Deteksi Wssv Pada Udang Vannamei. *Jurnal Ruaya : Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmu Perikanan Dan Kelautan*, 9(1), 54–62. <https://doi.org/10.29406/jr.v9i1.2615>
19. Tilawah, S., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Optimasi Volume DNA Marker dan Volume Amplifikasi Gen

- tetL Resistensi Antibiotik Tetrasiklin dari Bakteri *Bacillus cereus* pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Farmasi*, 4(1), 1–7. Retrieved from <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfarmasi/article/view/39968>
20. Iqbal, M., Dwi Buwono, I., & Kurniawati, N. (2016). Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Comparative Analysis of DNA Isolation Methods for Detection White Spot Syndrome Virus (WSSV) in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, VII(1), 54–65.
21. Agustiyanti, D. F., Syakuran, L. A., & (2022). Ta Cloning Untuk Perbanyak Plasmid Rekombinan Penyandi Gen Spike Hexapro Foldon. *Prosiding Seminar*, 181–188. Retrieved from <https://proceeding.unnes.ac.id/index.php/psnb/article/view/1705%0Ahttps://proceeding.unnes.ac.id/index.php/psnb/article/download/1705/1191>
22. Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2005). Image processing with *ImageJ* Part II. *Biophotonics International*, 11(7), 36–43.
23. Artati, D., & Lubis, D. S. (2017). Optimasi Performa Dna Marker Pada Elektroforesis Gel. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 15(2), 47. <https://doi.org/10.15578/blta.15.2.2017.47-50>
24. Green, M. R., & Sambrook, J. (2019c). Analysis of DNA by agarose gel electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(1), 6–15. <https://doi.org/10.1101/pdb.top100388>
25. Ven, S., & Rani, A. (2012). Discriminatory Power of Agarose Gel Electrophoresis in DNA Fragments Analysis. In *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*. InTech. <https://doi.org/10.5772/36891>
26. Vitzthum, F. (2004). *Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I , its structure determination and methodological implications*. 32(12). <https://doi.org/10.1093/nar/gnh101>