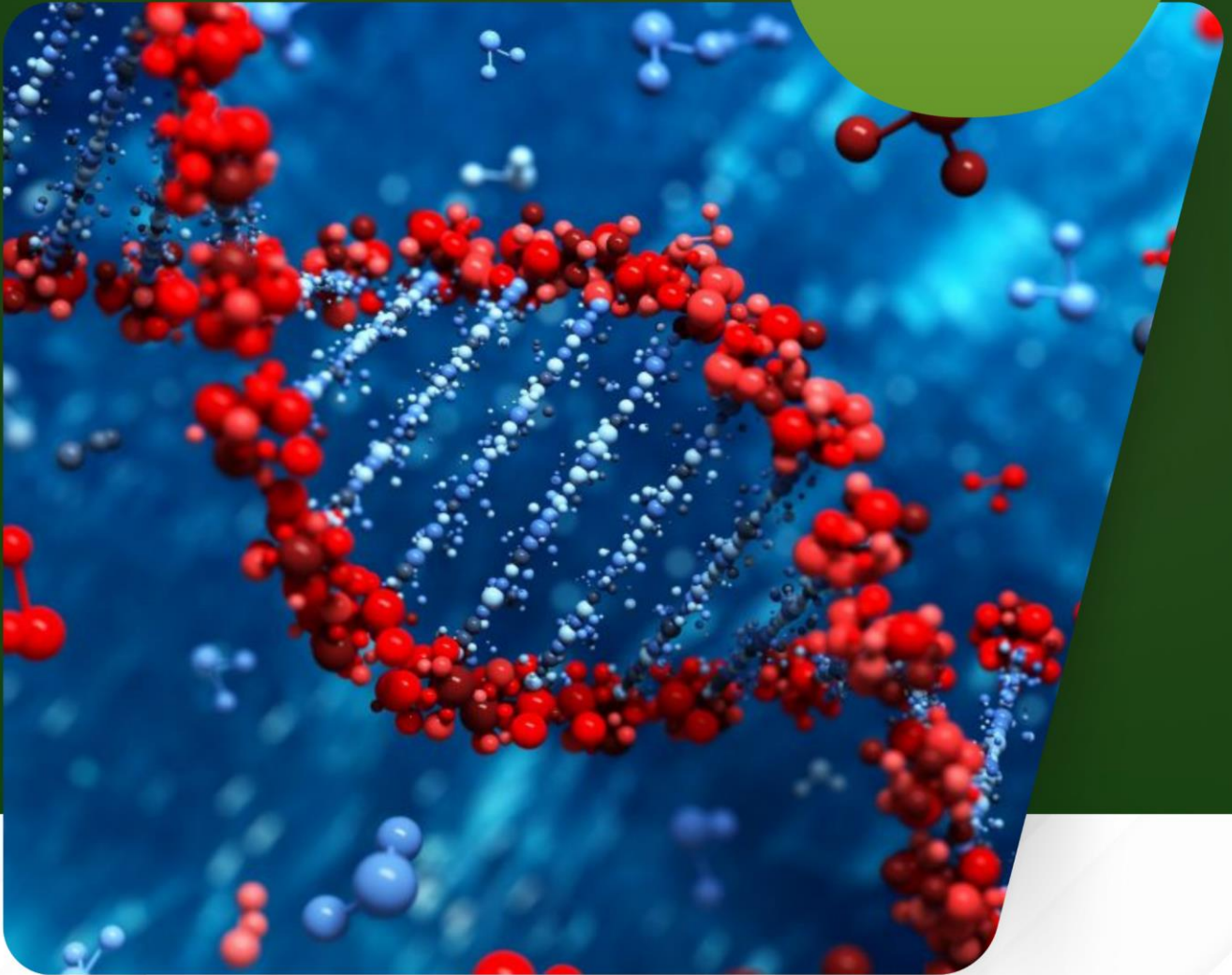


# Penuntun Praktikum Biologi Molekuler



## SEMESTER GANJIL

biologi.fst.uinjambi   
Program Studi Biologi 

## **Kata Pengantar**

Bismillaahirrahmaanirrahiim

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Kami mempersembahkan Buku Penuntun Praktikum Biologi Molekuler. Penuntun ini disusun untuk kegunaan praktikum mata kuliah Mikrobiologi yang diberikan untuk mahasiswa S1 pada Program Studi Biologi. Penuntun praktikum ini diharapkan berfungsi sebagai pedoman bagi mahasiswa untuk praktikum di laboratorium.

Buku Penuntun praktikum ini disusun secara rinci dan sistematis, dilengkapi dengan gambar sehingga memudahkan praktikan dalam memahami dan mempersiapkan diri sebelum melakukan kegiatan praktikum. Materi yang disajikan dalam buku ini merupakan prinsip dasar pekerjaan Biologi molekuler mulai dari isolasi DNA hingga visualisasi dengan Elektroforesis.

Harapan kami, buku ini dapat bermanfaat bagi praktikum Biologi Molekuler dasar serta bagi mahasiswa yang memerlukannya. Segala kritik dan saran yang bersifat membangun tentang isi buku ini sangat dihargai demi perbaikan kualitas lebih lanjut.

Jambi, Maret 2025

Penyusun

## Daftar Isi

Kata Pengantar.....	ii
Daftar Isi .....	iii
Pengenalan Alat dan Bahan Penelitian Biologi Molekuler .....	1
Preparasi Sampel dan Isolasi DNA.....	3
Mengukur Kemurnian dan Konsentrasi DNA (Kuantifikasi dengan Spektrofotometer) .....	8
Amplifikasi DNA (PCR) .....	10
Visualisasi DNA (Elektroforesis dan UV-vis Illuminator).....	13
Daftar Pustaka.....	15
Lampiran .....	16

## PETUNJUK UMUM

### 1) KESELAMATAN (SAFETY)

Langkah dasar:

1. Pada saat memasuki ruangan letakkan tas, buku dan alat tulis pada tempat yang telah disediakan, tidak di atas meja praktikum;
2. Jaga pintu dan jendela tetap tertutup untuk menghindari kontaminasi dari udara;
3. Bersihkan meja praktikum dengan menggunakan desinfektan sebelum memulai dan sesudah praktikum;
4. Jangan letakkan komponen yang bisa mengontaminasi di atas meja kerja, gunakan alat-alat steril sebelum mulai bekerja dengan mikroba;
5. Setelah selesai praktikum jangan meninggalkan alat dan bahan apa pun di atas meja kerja, ikuti petunjuk dan instruksi asisten/dosen pembimbing.

Untuk mencegah kecelakaan yang tidak disengaja/infeksi

1. Cuci tangan dengan air dan sabun atau cairan pembersih lalu keringkan dengan tisu sebelum dan saat akan meninggalkan laboratorium;
2. Selalu gunakan peralatan perlindungan:
  - a. Jas laboratorium dipakai sebelum memasuki ruangan dan dilepaskan setelah keluar dari laboratorium. Jas laboratorium dikancingkan seluruhnya sehingga menutupi pakaian dengan sempurna. Jas laboratorium dapat membantu mencegah kontaminasi dan tumpahan pewarna yang tidak disengaja;
  - b. Sarung tangan, sarung tangan akan melindungi tangan dari kontaminasi langsung mikroorganisme dan mencegah terpapar pewarna atau reagen lain;
  - c. Masker dan kacamata pelindung (*safety google*), untuk melindungi wajah dan mata;
3. Gunakan "*paper cap*" atau ikat rambut Panjang untuk mencegah terbakar oleh api Bunsen;
4. Gunakan sepatu tertutup selama praktikum, kecuali pada ruangan steril maka gunakan alas kaki bersih;
5. Jangan menggunakan kosmetik atau kontak lens selama di laboratorium;
6. Tidak diperkenankan, merokok, makan dan minum di dalam laboratorium;
7. Bawa tabung kultur (tabung reaksi) dengan menggunakan rak kultur selama di dalam laboratorium. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadi kecelakaan dan menghindari kontaminasi terhadap diri sendiri dan lingkungan;

8. Dilarang membawa media, peralatan dan kultur mikroba keluar dari laboratorium tanpa seizin asisten praktikum/ dosen pembimbing;
9. Laporkan segera kecelakaan kerja pada saat praktikum kepada asisten/dosen pembimbing/laboran;
10. Gunakan peralatan laboratorium sesuai prosedur, dilarang menjilat label, mencium secara langsung dan mengicip bahan dan alat praktikum;
11. Bicaralah seperlunya dan hindari melakukan aktivitas yang tidak diperlukan untuk menghindari distraksi dan kecelakaan di laboratorium.

## **2) TATA TERTIB**

1. Praktikan wajib hadir sesuai dengan jadwal praktikum;
2. Praktikan wajib berpakaian yang bersih, rapi dan sopan;
3. Praktikan wajib membawa alat dan bahan praktikum;
4. Praktikan wajib mempersiapkan materi/topik praktikum.
5. Praktikan wajib meminta izin kepada dosen/asisten apabila hendak keluar dari laboratorium.
6. Praktikan dilarang makan, minum dan merokok selama praktikum berlangsung.
7. Laporan harus dibawa saat masuk pada waktu praktikum sebagai syarat mengikuti praktikum.
8. Aturan dan tata tertib yang belum tercantum akan diputuskan kemudian.

## **3) PENYIAPAN ALAT DAN BAHAN**

1. Penyiapan alat dan bahan merupakan tanggung jawab kelompok piket;
2. Setiap kelompok menyediakan buku peminjaman alat dan mengajukan peminjaman minimal 1 minggu sebelum praktikum;
3. Periksa alat dan peralatan yang dipinjam sebelum digunakan;
4. Peralatan dikembalikan dalam keadaan baik dan bersih;
5. Kerusakan atau kehilangan peralatan harus diganti dengan peralatan yang sama dan ditanggung oleh kelompok yang bersangkutan dengan 2 kali jumlah alat/bahan yang rusak;
6. Peralatan yang dipinjam diketahui oleh dosen/asisten laboratorium.

## Pengenalan Alat dan Bahan Penelitian Biologi Molekuler

### A. Tujuan

1. Mahasiswa mampu mendeskripsi nama dan fungsi alat yang digunakan dalam pengerjaan biologi molekuler
2. Mahasiswa mengetahui jenis dan karakteristik bahan-bahan yang digunakan dalam pengerjaan biologi molekuler

### B. Kajian Teori

### C. Alat dan Bahan

#### Alat

- Mikropipet
- Vorteks
- Homogenizer
- Waterbath
- Sonicator
- Sentrifuge
- Spektrofotometer
- Nanodrop
- PCR
- RT-PCR
- Real Time PCR
- Sequencer
- Elektroforesis chamber set
- UV-Illuminator

#### Bahan

- Tip mikropipet berbagai ukuran
- Tabung Ependorff

### D. Prosedur Kerja

Pengenalan alat-alat pada preparasi sampel dan Isolasi DNA

1. Mikropipet
2. Vorteks
3. Homogenizer
4. Waterbath
5. Sonicator
6. Sentrifuge

Pengenalan Alat-alat pada Kuantifikasi DNA

1. Spektrofotometer
2. Nanodrop

Pengenalan Alat-alat PCR dan sequencing

1. PCR
2. RT-PCR
3. Real Time PCR

#### 4. Sequencer

#### Pengenalan Alat Visualisasi DNA

1. Elektroforesis chamber set
2. UV-Illuminator

#### E. Lembar Pengamatan

Tabel Hasil pengamatan alat-alat pada pengerjaan biologi molekuler

No.	Nama Alat	Foto	Fungsi	Ketersediaan*
1	Mikropipet			
2	Vorteks			
3	Homogenizer			
4	Waterbath			
5	Sonicator			
6	Sentrifuge			
7	Spektrofotometer			
8	Nanodrop			
9	PCR			
10	RT-PCR			
11	Real Time PCR			
12	Sequencer			
13	Elektroforesis set			
14	UV-Illuminator			
15	....			

\* Tempat/posisi keberadaan alat, jika tidak ada di laboratorium UIN STS Jambi, ajukan nama instansi yang memiliki dan bisa diakses

#### F. Pertanyaan Praktikum

1. Apakah semua alat dan bahan tersebut diperlukan pada setiap pengerjaan proyek biologi molekuler? Jelaskan?
2. Alat dan bahan apa saja yang tersedia di laboratorium UIN STS jambi?
3. Adakah alternatif untuk setiap alat dan bahan? Jika ada jelaskan?

## Preparasi Sampel dan Isolasi DNA

### A. Tujuan

1. Mahasiswa dapat melakukan preparasi sampel untuk isolasi DNA
2. Mahasiswa dapat mengisolasi DNA dari sampel yang tersedia

### B. Kajian Teori

#### Tujuan dan fungsi isolasi DNA

- a) Memisahkan DNA dari komponen seluler lain, Isolasi DNA bertujuan untuk mendapatkan DNA yang murni, bebas dari protein, RNA, lipid, dan zat lain yang dapat mengganggu analisis dan manipulasi DNA.
- b) Mendapatkan DNA dengan kualitas baik, DNA yang diisolasi dengan baik memiliki kualitas tinggi, baik dari segi kuantitas maupun kemurnian, sehingga dapat digunakan dalam berbagai aplikasi penelitian dan aplikasi industri.
- c) Memperoleh informasi genetik, Isolasi DNA merupakan langkah penting dalam penelitian genetik, memungkinkan peneliti untuk menganalisis DNA, mempelajari gen, dan mengidentifikasi mutasi.
- d) Memudahkan manipulasi DNA, dengan memiliki DNA murni, peneliti dapat lebih mudah melakukan manipulasi dan eksperimen pada DNA, seperti kloning, modifikasi genetik, dan terapi gen.

#### Prinsip dasar isolasi DNA

Semua metode purifikasi DNA melibatkan lima langkah penting:

#### 1. Pemecahan sel (cell breakage)

Cara terbaik untuk memecahkan sel dan mendapatkan DNA yang utuh adalah dengan penggunaan bahan kimia (deterjen) dan/atau prosedur enzimatik. Deterjen dapat melarutkan lipid dalam membran sel yang mengakibatkan lisis sel secara perlahan. Selain itu, deterjen memiliki efek penghambatan pada semua DNase seluler dan dapat mendenaturasi protein, sehingga membantu menghilangkan protein dari larutan.

#### 2. Lisis inti (Nuclear lysis)

#### 3. Menghilangkan protein (Removal of protein).

Beberapa cara yang dapat digunakan untuk menghilangkan protein dari sel adalah:

- a. Penghilangan protein dari larutan DNA bergantung pada perbedaan sifat fisik antara asam nukleat dan protein dalam pelarut organik. Asam nukleat merupakan molekul yang sebagian besar bersifat hidrofilik dan mudah larut dalam air. Sebaliknya, protein mengandung banyak residu hidrofobik yang membuatnya larut sebagian dalam pelarut organik. Pelarut organik yang biasa digunakan adalah fenol dan kloroform yang mengandung 1 persen isoamil alkohol. Aplikasi fenol didasarkan pada prinsip berikut: Molekul protein umumnya mengandung banyak residu hidrofobik, yang terkonsentrasi di bagian tengah molekul. Ketika larutan protein berair

dicampur dengan volume fenol yang sama, beberapa molekul fenol dilarutkan dalam fase air (sekitar 20 persen air dan 80 persen fenol). Namun, molekul fenol sangat hidrofobik. Akibatnya, mereka cenderung lebih mudah larut dalam inti hidrofobik protein daripada di dalam air. Akibatnya, molekul fenol berdifusi ke dalam inti protein yang menyebabkan protein membengkak dan akhirnya membuka atau berubah sifat. Akibatnya, protein terpartisi ke dalam fase fenol dan meninggalkan asam nukleat dalam fase air. Asam nukleat tidak memiliki gugus hidrofobik sama sekali dan tidak larut dalam fase fenol.

- b. Penggunaan deterjen ionik. Deterjen ini, dengan membuka lipatan protein, membantu mengekspos daerah hidrofobik rantai polipeptida ke misel fenol, sehingga membantu partisi protein ke dalam fase fenol.
  - c. Penghilangan protein secara enzimatik sebelum ekstraksi fenol. Hal ini mengurangi jumlah ekstraksi yang diperlukan, sehingga membatasi kehilangan dan pemotongan DNA. Dua enzim yang digunakan adalah proteinase K dan pronase. Proteinase K dan pronase biasanya digunakan dalam prosedur pemurnian DNA dengan konsentrasi akhir 0,1-0,8 mg/ml.
  - d. Penambahan 8-OHQ (8-hydroxyquinoline) ke dalam fenol. Hal ini meningkatkan kelarutan fenol dalam air; ini berperan sebagai anti-oksidan, melindungi fenol dari oksidasi.
4. Menghilangkan RNA (Removal of RNA).  
Menghilangkan RNA dari sediaan DNA biasanya dilakukan dengan menggunakan dua ribonuklease, yaitu ribonuklease A dan ribonuklease T1. Karena spesifisitas pembelahan RNA dari enzim-enzim ini, disarankan agar keduanya digunakan secara bersamaan untuk menghilangkan RNA secara menyeluruh dari sampel DNA.
5. Pengendapan DNA (Concentration of DN  
Pengendapan DNA dapat dilakukan dengan cara:
- a. Presipitasi etanol
  - b. Ekstraksi fenol-kloroform Ekstraksi fenol-kloroform
  - c. Pemurnian kolom mini: yang bergantung pada fakta bahwa asam nukleat dapat mengikat (adsorpsi) pada fase padat (silika atau lainnya) tergantung pada pH dan kandungan garam penyangga. Penyempurnaan teknik ini termasuk menambahkan "chelating agen" untuk mengasingkan kation divalen, seperti  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ , yang mencegah enzim seperti DNase untuk mendegradasi DNA. Dua alkohol digunakan untuk pengendapan DNA: etanol dan isopropanol.

Pengendapan alkohol didasarkan pada fenomena penurunan kelarutan asam nukleat dalam air. Molekul air yang bersifat polar mengelilingi molekul DNA dalam larutan air. Dipol air yang bermuatan positif berinteraksi secara kuat dengan muatan negatif pada gugus fosfodiester DNA. Interaksi ini meningkatkan kelarutan DNA dalam air. Etanol benar-benar dapat larut dengan air, namun molekul etanol tidak dapat berinteraksi dengan gugus polar asam nukleat sekuat air, sehingga etanol merupakan pelarut yang sangat buruk untuk asam nukleat. Pengendapan DNA biasanya dilakukan dengan 70 persen etanol (konsentrasi akhir) dengan adanya konsentrasi

garam natrium atau amonium yang sesuai. Natrium asetat lebih mudah larut dalam etanol daripada natrium klorida dan, oleh karena itu, lebih kecil kemungkinannya untuk mengendap bersama sampel DNA.

Ketika ekstraksi DNA dilakukan, hasil yang mungkin muncul adalah:.

- 1) Tidak ada DNA
- 2) DNA tampak mengembang yang berarti telah terpotong dalam proses ekstraksi
- 3) DNA tampak sebagai benang tipis (DNA utuh)

Beberapa bahan dan kondisi yang digunakan dalam isolasi DNA dan fungsinya:

- 1) Larutan detergen dan garam: memecah dinding lipid
- 2) Suhu 60°C diperlukan untuk mendenaturasi enzim DNase yang menyebabkan kerusakan pada DNA
- 3) Garam MgSO<sub>4</sub> dan aspirin buffer untuk menonaktifkan enzim-enzim yang mendegradasi DNA dan menstabilkan DNA
- 4) Natrium bikarbonat (soda kue) juga digunakan untuk menyangga larutan.
- 5) Pelunak daging atau jus pepaya mengandung papain, enzim yang membantu membersihkan protein dari DNA.
- 6) Etanol digunakan untuk mengendapkan DNA. Dalam air, DNA dapat larut. Ketika berada di dalam etanol, DNA akan terlepas dan mengendap, meninggalkan komponen sel lainnya yang tidak larut dalam etanol.
- 7) Air untuk melarutkan DNA.
- 8) Blender: menyebabkan rusaknya dinding sel, membran sel, dan membran inti

#### C. Alat dan Bahan

- Buffer Lisis (lihat lampiran 1)
- Larutan fenol Kloroform
- PBS
- Kit Isolasi DNA
- Sentrifuse
- Vortex
- Mikropipet berbagai ukuran
- Tip mikropipet berbagai ukuran
- Akuades Steril

#### D. Prosedur Kerja

Isolasi Bakteri dari Biji

Buatlah suspensi Bakteri dari biji kacang-kacangan terlebih dahulu dengan memasukkan 1-2 genggam kacang kering ke dalam stoples besar dan isi setengahnya dengan air suling. Tutup dan diamkan di ruangan yang hangat

selama 2-3 hari. Kultur yang lebih lama dari tiga hari sering kali menghasilkan lebih banyak DNA tetapi biasanya akan terpotong. Tuang melalui saringan dan simpan cairan untuk ekstraksi.

#### Protokol Ekstraksi DNA Bakteri Kacang (Isolasi DNA Sederhana)

1. Tambahkan 14 ml suspensi bakteri ke dalam tabung sentrifugasi dan putar dalam sentrifugasi yang seimbang selama 5 menit.
2. Tuang cairan (supernatan) dan buang. Anda ingin menyimpan pelet karena di dalamnya terdapat sel.
3. Tambahkan 5 ml buffer preparasi dan suspensi ulang sel Anda dengan pipet.
4. Tambahkan 1 ml larutan deterjen 50%.
5. Tambahkan 1 ml jus pepaya.
6. Tambahkan 2 ml larutan garam dan kocok selama 2 menit.
7. Tempatkan tabung di dalam mesin sentrifugasi dan putar selama 5 menit. Pastikan sentrifus seimbang.
8. Ambil 2 ml supernatan (cairan) karena mengandung DNA dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih.
9. Tuangkan 2 ml etanol dingin dengan hati-hati ke sisi tabung.
10. Diamkan campuran selama 2-3 menit hingga gelembung berhenti.
11. DNA akan mengapung di dalam alkohol. Putar batang kaca pada permukaan kedua lapisan. Anda mungkin akan melihat beberapa benang kecil DNA, tetapi kemungkinan besar Anda akan melihat DNA yang halus dan berwarna putih.

Isolasi DNA Bakteri dengan menggunakan kit

- Gunakan prosedur yang ada pada lampiran

#### Isolasi DNA dari organ Hewan

1. Timbang 0,5 gram organ. Masukkan ke mortar yang telah didinginkan, gerus sampai halus atau lakukan dengan sonikator;
2. Tambahkan 0,5 ml bufer lisis dan campurkan sampai homogen;
3. Masukkan homogenat ke tabung microsentrifuge 1,5 mL steril, sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm suhu 4°C selama 10 menit;
4. Buang supernatan, tambahkan 1x volume larutan fenol klorofom, vortex hingga terlarut rata;
5. Sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm suhu ruang selama 10 menit;
6. Pindahkan supernatan ke tabung mikrosentrifuge baru, tambahkan 1x volume larutan fenol klorofom, vortex sampai terlarut;
7. Sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm suhu ruang selama 10 menit;
8. Pindahkan supernatan ke tabung mikrosentrifuge baru, tambahkan 1x volume ethanol absolut, kocok dengan tang 2X, inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit;
9. Sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm suhu 4°C selama 10 menit;
10. Buang supernatan, tambahkan 2x volume 70% ethanol, vortex 5 menit;

11. Sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm suhu 4°C selama 10 menit;
12. Ulangi langkah 10-11;
13. Keringaginkan pelet terakhir pada suhu ruang selama 5 menit;
14. Larutkan pelet dengan buffer TE (pH 7,6) sebanyak 50 mL, inkubasi pada suhu 55°C campur dan sentrifugasi dengan kecepatan rendah (spindown);
15. Simpan pada suhu -20°C untuk jangka panjang.

E. Lembar Pengamatan

Tahapan ke-	Proses yang mungkin terjadi	Hasil yang diharapkan dan catatan
1.		
2.		
3.		
Dst.		

F. Pertanyaan Praktikum

- a. Apa yang terjadi pada setiap tahap isolasi DNA yang kamu lakukan?
- b. Apa fungsi masing-masing larutan/zat yang digunakan dalam proses isolasi DNA?
- c. Apa kendala yang dihadapi pada saat isolasi DNA?
- d. Apakah ada bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai komponen pengganti jika kit DNA rusak/habis?

## Mengukur Kemurnian dan Konsentrasi DNA (Kuantifikasi dengan Spektrofotometer)

### A. Tujuan

1. mahasiswa mampu menggunakan spektrofotometer untuk analisis kuantitatif DNA
2. mahasiswa dapat menghitung nilai kemurnian dan konsentrasi DNA
3. mahasiswa dapat menginterpretasikan hasil analisis kemurnian dan konsentrasi DNA

### B. Kajian Teori

Pengujian kemurnian DNA termasuk salah satu uji kuantitatif. Uji ini dapat dengan menggunakan alat uv-vis spektrofotometer atau nano-drop spektrofotometer. Kedua alat ini memiliki prinsip yang sama yaitu dengan memantulkan cahaya ultraviolet (UV). DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet tersebut karena keberadaan purin dan pirimidin. DNA dapat menyerap panjang gelombang UV pada 260 nm sedangkan kontaminan (protein/fenol) kana menyerap cahaya pada panjang gelombang 280nm. Sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm. Nilai kemurnian DNA yang baik berkisar 1,8-2,0.

Selanjutnya, pengukuran konsentrasi DNA dapat digunakan rumus sebagai berikut:

$$[DNA] = A_{260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan:

$A_{260}$  = nilai absorbansi pada 260 nm

50 = larutan dengan absorbansi 1,0 sebanding dengan 50 $\mu$ g untai ganda DNA per mL

### C. Alat dan Bahan

- UV-vis Spektorfotometer
- Kuvet
- Mikropipet berbagai ukuran
- Tip mikr
- TE buffer
- Parafilm
- DNA Sampel

### D. Prosedur Kerja

1. Siapkan kuvet, isi 1 kuvet sebagai blanko dengan 500  $\mu$ L buffer TE;
2. Isi kuvet berikutnya sengan 495 $\mu$ L buffer TE dan 5  $\mu$ L DNA, tutup dengan parafilm, lalu bolak balik hingga tercampur sempurna;
3. Masukkan kuvet berisi blanko dan sampel kedalam spetrofotomer dan dipaparkan dengan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

4. Lakukan perhitungan konsentrasi dan kemurnian berdasarkan hasil pengukuran!
5. Buatlah kesimpulan!

E. Lembar Pengamatan

Hasil pengukuran absorbansi DNA sampel pada  $\lambda 260$  dan  $\lambda 280$

Bahan	$\lambda 260$				$\lambda 280$			
	U1	U2	U3	Rata2	U1	U2	U3	Rata2
Blanko								
S1								
S2								
S3								
Dst..								

Konsentrasi DNA Sampel

Sampel	Rata2 abs $\lambda 260$	Konsentrasi DNA
S1		
S2		
dst		

Faktor pengenceran= 100 (5 $\mu$ l DNA dalam 500 $\mu$ l larutan)

F. Pertanyaan Praktikum

- a. Bagaimana kemurnian DNA yang didapatkan?
- b. Faktor apa yang menyebabkan kemurnian DNA sampel  $>/<$  dari 1,8-2?
- c. Apa yang dapat disimpulkan dari jumlah konsentrasi DNA yang di dapatkan?

## Amplifikasi DNA (PCR)

### A. Tujuan

1. Mahasiswa mampu menggunakan alat PCR dan mempersiapkan prosedur yang diperlukan

### B. Kajian Teori

Reaksi berantai polimerase (PCR) adalah teknik amplifikasi DNA yang telah merevolusi hampir semua aspek penelitian biologi. PCR ditemukan pada tahun 1984 oleh Dr. Kary Mullis di Cetus Corporation di California. Kegunaan metode PCR yang sangat besar didasarkan pada kemudahan penggunaannya dan kemampuannya untuk memungkinkan amplifikasi fragmen DNA kecil. Atas teknologi inovatif ini, Mullis dianugerahi Penghargaan Nobel dalam bidang Kimia pada tahun 1993. Polimerase chain reaction (PCR) adalah reaksi replikasi DNA yang dilakukan secara berulang sehingga didapatkan banyak kopian untai DNA yang sama. Proses berulang tersebut meliputi Denaturasi, annealing, penempelan primer dan ekstensi oleh enzim DNA polimerase.

Sebelum melakukan PCR, DNA cetakan diekstraksi dari berbagai sumber biologis. Karena PCR sangat sensitif, hanya diperlukan beberapa salinan gen. Meskipun demikian, DNA yang baru diisolasi akan memberikan hasil amplifikasi yang lebih baik daripada spesimen DNA lama yang mungkin telah terdegradasi. Untuk mengamplifikasi DNA atau urutan target tertentu, dua primer (molekul DNA sintesis pendek) dirancang agar sesuai dengan ujung urutan target. Primer berhibridisasi dengan cetakan DNA, yang menandai urutan ini untuk disalin oleh DNA polimerase. Dimulai dari primer, DNA polimerase membangun untai DNA baru dalam arah 5' → 3', menggunakan cetakan DNA sebagai panduan.

Untuk melakukan PCR, DNA cetakan dan kelebihan molar primer dicampur dengan empat deoksinukleotida "bebas" (dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP), dan DNA polimerase termotabil. DNA polimerase yang paling umum digunakan adalah DNA polimerase Taq. Enzim ini, yang awalnya dimurnikan dari bakteri yang hidup di sumber air panas, stabil pada suhu yang sangat tinggi. Komponen-komponen ini (DNA cetakan, primer, empat deoksinukleotida, dan DNA polimerase Taq) dicampur dengan penyangga yang mengandung Mg<sup>2+</sup>, kofaktor penting untuk Taq polimerase. Campuran reaksi PCR mengalami siklus pemanasan/pendinginan berurutan pada tiga suhu berbeda dalam siklus termal.

- a. Pada langkah pertama, yang dikenal sebagai "denaturasi", campuran dipanaskan hingga hampir mendidih (94°C -96°C) untuk "melepaskan" (atau melelehkan) DNA target. Suhu tinggi mengganggu ikatan hidrogen antara dua untai DNA komplementer dan menyebabkan pemisahannya.

- b. Pada langkah kedua, yang dikenal sebagai "annealing", campuran reaksi didinginkan hingga 45°C - 65°C, yang memungkinkan primer untuk berpasangan basa dengan urutan DNA target.
- c. Pada langkah ketiga, yang dikenal sebagai "ekstensi", suhu dinaikkan hingga 72°C. Ini adalah suhu optimal di mana polimerase Taq dapat menambahkan nukleotida ke primer hibrida untuk mensintesis untai komplementer baru. Ketiga langkah ini - denaturasi, annealing, dan ekstensi - merupakan satu "siklus" PCR.

Setiap siklus PCR menggandakan jumlah DNA target dalam waktu kurang dari lima menit. Untuk menghasilkan DNA yang cukup untuk analisis, mungkin diperlukan dua puluh hingga empat puluh siklus. Untuk menyederhanakan proses ini, sebuah mesin khusus, yang disebut "thermal cycler" atau "PCR machine", diciptakan untuk memanaskan dan mendinginkan sampel dengan cepat.

#### C. Alat dan Bahan

- Kit PCR (MgCl<sub>2</sub>, buffer PCR, DNA Taq polymerase)
- Mesin Thermal Cycler
- Pipet
- Tabung dan ujung PCR
- ddH<sub>2</sub>O
- dNTPmix
- Stok primer
- Sampel DNA (dari praktikum sebelumnya)
- Vortex

#### D. Prosedur Kerja

Prosedur:

1. Berikan label pada satu tabung sentrifus 1,5 ml dengan "master mix" dan kode sample
2. Berikan label pada tabung PCR 0,2 ml untuk sampel dna yang berbeda dan untuk kontrol negatif.
3. Isi tabel berikut ini dengan jumlah reagen yang cukup dan kalikan berdasarkan jumlah sampel.

Reagen	1x (10µl)	10x (10µl)
MgCl <sub>2</sub>		
PCR buffer (5x) – Green Buffer		
dNTPmix		
Forward primer		
Taq polymerase		
ddH <sub>2</sub> o		
DNA		
Total		

4. Campur reagen dengan menjentikkan tabung secara perlahan kecuali DNA. Ini adalah master mix PCR. Larutan harus berwarna hijau pucat. Catatan: jika larutan tidak berwarna hijau pucat, sampel PCR belum dirakit dengan benar.
5. Tambahkan 1 µl sampel DNA ke dalam tabung PCR
6. Pindahkan 9 µl Master mix PCR ke dalam tabung PCR yang telah ditambahkan dna, simpan diatas es.
7. Campur sampel dengan lembut. Pastikan campuran PCR larut sepenuhnya.
8. Sentrifuse dengan cepat untuk mengumpulkan sampel di dasar tabung.
9. Rekomendasikan parameter siklus yang sesuai untuk mesin pcr dengan mengisi tabel di bawah ini!

Langkah	Temperatur	Waktu	Jumlah siklus
Initial Denaturation			
Denaturation			
Annealing			
Extension			
Final extension			
Hold			

10. Tempatkan tabung PCR di mesin PCR dan jalankan.
11. Setelah PCR selesai, tempatkan tabung di -20°C untuk penggunaan selanjutnya.

#### E. Lembar Pengamatan

Diisi dengan tabel pada prosedur No. 3 dan No. 9.

#### F. Pertanyaan Praktikum

1. Bagaimana cara mengetahui bahwa langkah amplifikasi DNA dengan PCR sudah berhasil?
2. Faktor apa saja yang menentukan keberhasilan dan kegagalan proses amplifikasi DNA dengan PCR?

## Visualisasi DNA (Elektroforesis dan UV-vis Illuminator)

### A. Tujuan

2. Mahasiswa mampu menggunakan elektroforesis dan menganalisis hasil yang divisualisasikannya

### B. Kajian Teori

Secara kualitas banyak dan sedikit atau bagus atau tidaknya DNA yang didapatkan dapat divisualisasikan dengan elektroforesis. Proses migrasi DNA dengan elektroforesis melalui agarose dapat dipengaruhi oleh faktor ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi agarosa, arus listrik dan suhu. Pewarna Etidium bromida (EtBr) digunakan untuk alat identifikasi dan mengukur semikuantitatif fragmen DNA yang terpisah dalam gel. EtBr akan terikat antara untai DNA sehingga pita DNA akan berpendar dalam agarosa jika terekspos pada sinar UV level medium ( $\lambda$  300nm) karena mengandung fluoresen. Intensitas fluoresen dapat diukur dengan menggunakan penanda DNA standar, sehingga kuantitas DNA dapat diperkirakan, misalnya 0,05-20  $\mu\text{g/mL}$ .

### C. Alat dan Bahan

- DNA Elektroforesis Chamber
- UV-transiluminator
- Agarose
- TBE Buffer
- DNA sampel
- Loading Dye
- Etidium Bromida
- Sarung tangan
- Selotip kertas

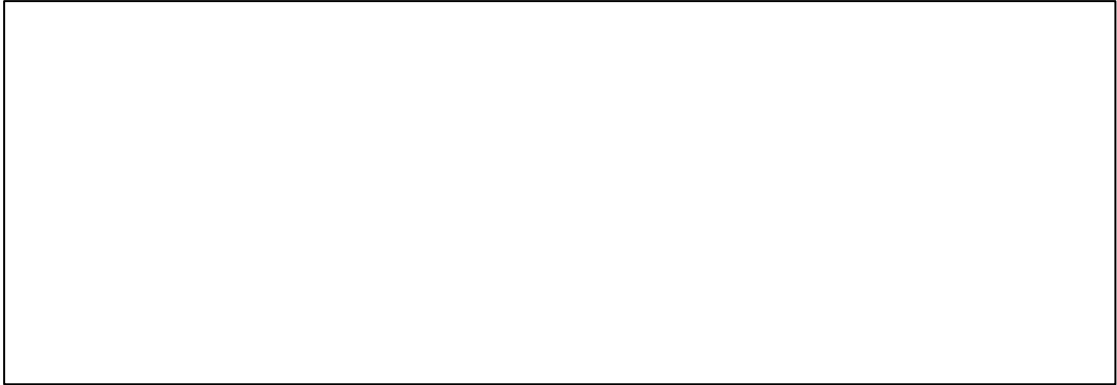
### D. Prosedur Kerja

1. Siapkan gel agarose 1% dengan memanaskan bubuk agarosa dengan TBE hingga mendidih;
2. Setelah mendidih, dinginkan hingga suhu sekitar  $8^{\circ}\text{C}$  dan tambahkan 1-2  $\mu\text{L}$  etidium bromida, kemudian tuangkan agarosa + EtBr pada cetakan yang telah dipasang sisir pembuat sumur sample dan selotip kertas pada ujung-ujung cetakan;
3. Bila telah mengeras, masukkan gel dan cetakan ke dalam chamber dan tuangkan bufer TBE hingga gel terendam;
4. Di wadah lain gabungkan DNA sampel: loading dye (1:1) sebanyak 2-5  $\mu\text{L}$ ;
5. Masukkan 2-5  $\mu\text{L}$  marker DNA pada sumur 1 dan campuran DNA tersebut ke dalam sumur pada sumur ke 2 dst;
6. Hubungkan elektroda dengan power suplai dan nyalakan hingga 1-2 jam/ pewarna DNA hampir mencapai ujung gel;

7. Setelah selesai, matikan alat elektroforesis dan ambil gel lalu pindahkan ke UV-transiluminator;
8. Dokumentasikan hasil yang didapat dengan gel-doc atau kamera paraloid.

E. Lembar Pengamatan

Gambar hasil elektroforesis dan keterangan



F. Pertanyaan Praktikum

- d. Apa kendala yang dihadapi saat proses elektroforesis?
- e. Faktor-faktor apa saja yang mungkin dapat menyebabkan kegagalan elektroforesis?

## Daftar Pustaka

- David Ng, Li-Juan Sun, Loida J. Escote-Carlson, Jim Kronstad, John Carlson, and Vindhya Amarasinghe. 2022. *Molecular Biology Lab Manual 2022*. University of British Columbia.
- Farhat, A. Avin. 2018. *Laboratory Manual Molecular Biology*. Malayia: Lincoln University College.
- Fatchiyah, Estri Laras Arumingtyas, sri Widyarti dan Sri Rahayu. 2011. *Biologi Molekular: Prinsip Dasar analisis*. Jakarta: Erlangga.

## Lampiran

### **Buffer lisis**

100mM Tris-Cl (pH 8), 2 mM EDTA (pH 8), Nonidet-P40 2,5%. Tambahkan 10 mg/ml proteinase K sebelum digunakan.

### **Larutan Fenol-Kloroform**

Fenol:kloroform (24:25) ditempatkan dalam botol stok warna gelap dan ditutup rapat

### **Saline Buffer Fosfat (PBS)**

137 mM NaCl ditambahkan 2,7 mM KCl; 8,0 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; dan 1,5 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : kemudian dilarutkan dalam akuades steril hingga 1L.

### **Buffer Tris-Asam Borat (TBE)**

89 mM Tris-Cl; 89 mM borat; dan 2 mM larutan EDTA

### **Loading dye**

0,4% bromophenol blue, 50% gliserol, 1 mM EDTA pH 8

## **Format dan Penilaian Laporan Praktikum**

a. Cover boleh diketik (5 poin)\*

b. Isi (95 poin)

Laporan Praktikum ditulis tangan, tidak mencontek dengan margin kirim 4 cm, kanan, atas dan bawah masing-masing 3 cm

- 1) Tujuan Praktikum (5 poin)
- 2) Kajian Teori (15 poin)
- 3) Alat dan Bahan (5 poin)
- 4) Prosedur Kerja dalam bentuk bagan alir (10 poin)
- 5) Hasil (15 poin)
- 6) Pembahasan (30 poin)
- 7) Kesimpulan (10 poin)
- 8) Daftar Pustaka (5 poin)

Contoh format cover laporan praktikum

## **LAPORAN PRAKTIKUM BIOLOGI MOLEKULER**

**Judul Praktikum**



**Nama : abcdefgh**

**NIM : xxxxxxxx**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN SULTHAN THAHA SAIFUDDIN JAMBI  
2025**



ZYMO RESEARCH

DNA  
Purification  
MADE SIMPLE  
Made Simple™

# Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit

DNA from fecal, soil, and microbial samples.

## Highlights

- Rapid method for the isolation of inhibitor-free, PCR-quality DNA (up to 25 µg/prep) from microbes including Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, algae, protozoa, etc. in fecal and soil samples in as little as 20 minutes.
- State-of-the-art, ultra-high density **BashingBeads™** are fracture resistant and chemically inert.
- Omits the use of organic denaturants as well as proteinases.

Catalog Numbers:  
D6010



Scan with your smart-phone camera to  
view the online protocol/video.



tech@zymoresearch.com



www.zymoresearch.com



Toll Free: (888) 882-9682

# **Table of Contents**

---

<b>Product Contents .....</b>	<b>01</b>
<b>Specifications .....</b>	<b>02</b>
<b>Product Description .....</b>	<b>03</b>
<b>Protocol .....</b>	<b>06</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>08</b>
<b>Ordering Information.....</b>	<b>09</b>
<b>Guarantee .....</b>	<b>11</b>

# Product Contents

<b>Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit</b>	<b>D6010 (50 Preps)</b>	<b>Storage Temperature</b>
ZR BashingBead™ Lysis Tubes (0.1 & 0.5 mm)	50	Room Temp.
BashingBead™ Buffer	40 ml	Room Temp.
Genomic Lysis Buffer <sup>1</sup>	100 ml	Room Temp.
DNA Pre-Wash Buffer <sup>2</sup>	15 ml	Room Temp.
g-DNA Wash Buffer	50 ml	Room Temp.
DNA Elution Buffer	10 ml	Room Temp.
Prep Solution	30 ml	Room Temp.
Zymo-Spin™ III-F Filters	50	Room Temp.
Zymo-Spin™ III-HRC Filters	50	Room Temp.
Zymo-Spin™ IICR Columns	50	Room Temp.
Collection Tubes	200	Room Temp.
Instruction Manual	1	-

<sup>1</sup> For optimal performance, add beta-mercaptoethanol to 0.5% (v/v) *i.e.*, 500 µl per 100 ml.

<sup>2</sup>A precipitate may have formed in the **DNA Pre-Wash Buffer** during shipping. To completely resuspend the buffer, incubate the bottle at 30–37°C for 30 minutes and mix by inversion. **DO NOT MICROWAVE.**

# Specifications

- **Format** – Bead Beating, Spin Column.
- **Sample Sources** – Host, bacterial, fungal, algal, protozoan, viral DNA can be isolated from up to 150 mg of feces or up to 250 mg of soil. The amount of soil sample processed will vary depending on the composition of the sample: process more soil material for wet muddy samples and less for dry sandy samples. Additionally, water<sup>1</sup> or 50 – 100 mg (wet weight) fungal/bacterial cells<sup>2</sup> can be isolated.
- **DNA Purity** – High quality, inhibitor-free DNA is eluted with DNA Elution Buffer suitable for the amplification of bacterial, protist, and/or mammalian templates ( $A_{260}/A_{280} > 1.8$ )
- **DNA Size Limits** – Capable of recovering genomic DNA up to and above 40 kb. In most instances, mitochondrial DNA and viral DNA (if present) will also be recovered.
- **DNA Recovery** – Typically, up to 25 µg total DNA is eluted into 100 µl (50 µl minimum) **DNA Elution Buffer** per sample.
- **Equipment** – – Microcentrifuge, vortex, cell disrupter/disrupter (recommended).

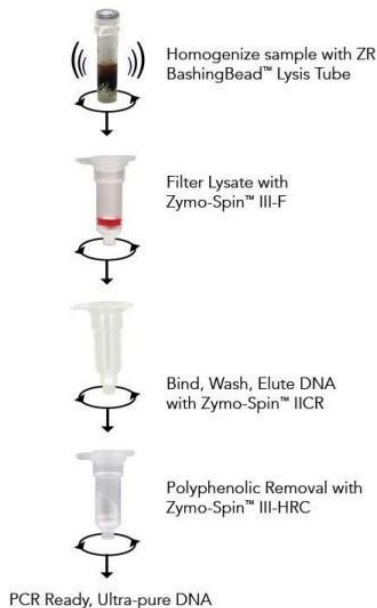
---

<sup>1</sup>For water samples, use desired filter to collect sample (not provided) and cut the filter into small pieces before adding to the lysis tube.

<sup>2</sup> This equates to approximately  $10^9$  bacterial cells and  $10^8$  yeast cells.

# Product Description

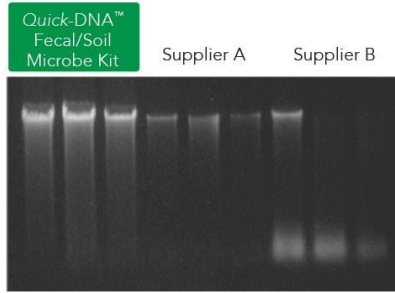
The **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit** is designed for the simple, rapid isolation of inhibitor-free, PCR-quality DNA from a variety of fecal (including humans, birds, rats, mice, cattle, etc.) and soil (including clay, sandy, silty, peaty, chalky, and loamy soils) samples. The kit can be used to successfully isolate DNA from tough-to-lyse Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, algae, protozoa, etc. that inhabit fecal and soil samples. The procedure is easy and can be completed in as little as 15 minutes: fecal samples ( $\leq 150$  mg each) or soil samples ( $\leq 250$  mg each) are added directly to a **ZR BashingBead™ Lysis Tube (0.1 & 0.5 mm)** and rapidly and efficiently lysed by bead beating without the use of organic denaturants or proteinases. Zymo-Spin™ Technology is then used to isolate the DNA, which is subsequently filtered to remove humic acids/polyphenols that inhibit PCR. The DNA is ideal for downstream molecular-based applications including PCR, arrays, genotyping, etc. A schematic of the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit** procedure is shown below.



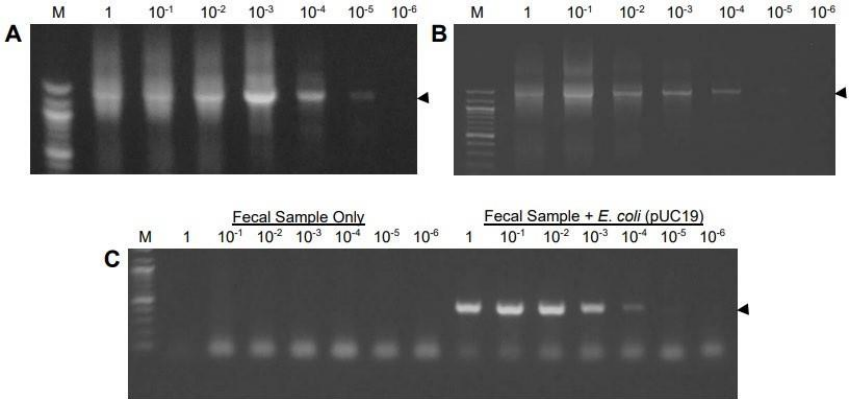
**DNA/RNA Shield™ (R1100-50, R1100-250)** can be used to stabilize nucleic acids and inactivate infectious agents in a variety of samples, without the need for reagent removal.

For rapid, robust, and simple purification of high quality, inhibitor-free DNA from any sample including feces, soil, water, biofilms, swabs, saliva, body fluids, etc. use the **ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (D4300)**.

## Fecal DNA Isolation

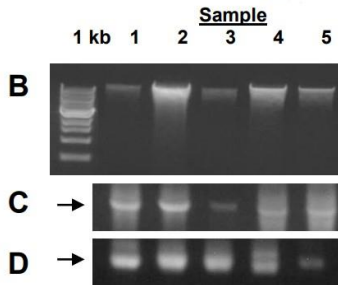


Comparison of DNA yields from rat feces using the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit** and kits from suppliers A and B. Equivalent amounts of feces were processed using each kit and then equal volumes of eluted DNA were analyzed in a 0.8% (w/v) agarose/ethidium bromide gel. Samples were processed in triplicate.

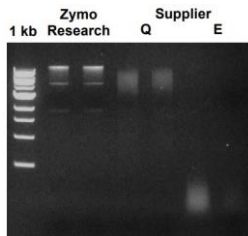


PCR of DNAs from rat and human fecal samples isolated with the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit**. Panels A and B show the results of PCR with DNA isolated from rat and human fecal samples, respectively, using primers specific for prokaryotic 16S rRNA. Panel C shows the results of PCR of DNA isolated from human feces with and without the addition of *E. coli* containing pUC19 plasmid DNA (indicated at the top of the image) using primers specific for the pUC19 sequence. In each case, amplicons were analyzed in a 1.5% (w/v) agarose / ethidium bromide gel using a UV imager. Numbers above each lane of the gel images are the volumetric equivalent (in  $\mu\text{l}$ ) of eluted DNA (100  $\mu\text{l}$ ) used for PCR. Arrows mark the relative migration of amplicons in the gels, and M is a 100 bp DNA ladder (NEB).

## Soil Microbe DNA Isolation



The **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit** can be used to isolate high quality DNA from a variety of soil types which yields robust products following PCR. **Panel A:** Physical characteristics of sampled soils (1-5) (Ref. 1). **Panel B:** Microbial DNA was isolated from soil samples (1-5) using the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit**. Approximately 10% of the eluted DNA was then separated in a 0.8% (w/v) agarose/ethidium bromide gel. **Panels C and D** show the results of PCR of microbial DNA isolated from the samples with primers specific for prokaryotic 16S rRNA (**C**) or eukaryotic rRNA (**D**). In the figures, the 1 kb size marker (NEB) is as indicated and the arrows show the prokaryotic 16S rRNA and eukaryotic rRNA PCR products.



DNA isolated from *Saccharomyces cerevisiae* (strain TMY18) using the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit** is high-quality and structurally intact. Equivalent amounts of yeast were processed using the **Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Kit** or the kits from suppliers Q and E. Equal volumes of eluted DNA were then analyzed in a 0.8% (w/v) agarose/ethidium bromide gel. The size marker is a 1 kb ladder (NEB).

### References:

1. Soil and Plant Laboratory, Inc. P.O. Box 11744, Santa Ana, California 92711

# Protocol

For optimal performance, add beta-mercaptoethanol (user supplied) to the **Genomic Lysis Buffer** to a final dilution of 0.5% (v/v) *i.e.*, 500 µl per 100 ml.

1. Add  $\leq 150$  mg of fecal sample or  $\leq 250$  mg of soil sample to a **ZR BashingBead™ Lysis Tube (0.1 & 0.5 mm)**. Add 750 µl **BashingBead™ Buffer** to the tube<sup>1</sup>.

*Note: Alternatively, add water sample<sup>2</sup> or 50-100 mg (wet weight) fungal/bacterial cells<sup>3</sup> that have been resuspended in up to 200 µl of water or isotonic buffer (e.g., PBS) to a **ZR BashingBead™ Lysis Tube**.*

*Note: For samples stored in DNA/RNA Shield™, add up to 1 ml to a ZR BashingBead™ Lysis Tube. Do not add BashingBead™ Buffer and proceed to Step 2.*

2. Secure in a bead beater fitted with a 2 ml tube holder assembly and process using optimized beat beating conditions (speed and time) for your device (see Appendix).
3. Centrifuge the **ZR BashingBead™ Lysis Tube (0.1 & 0.5 mm)** in a microcentrifuge at  $\geq 10,000 \times g$  for 1 minute.
4. Transfer up to 400 µl supernatant to a **Zymo-Spin™ III-F Filter** in a **Collection Tube** and centrifuge at  $8,000 \times g$  for 1 minute.
5. Add 1,200 µl of **Genomic Lysis Buffer** to the filtrate in the **Collection Tube** from Step 4. Mix well.
6. Transfer 800 µl of the mixture from Step 5 to a **Zymo-Spin™ IICR Column<sup>4</sup>** in a **Collection Tube** and centrifuge at  $10,000 \times g$  for 1 minute.
7. Discard the flow through from the **Collection Tube** and repeat Step 6.

---

<sup>1</sup> Cap tube tightly to prevent leakage.

<sup>2</sup> For water samples, filter using desired non-silica based filter (not provided). Cut the filter into small pieces before adding to the lysis tube.

<sup>3</sup> This equates to approximately  $10^9$  bacterial cells and  $10^8$  yeast cells.

<sup>4</sup> The **Zymo-Spin™ IICR Column** has a maximum capacity of 800 µl.

8. Add 200  $\mu\text{l}$  **DNA Pre-Wash Buffer** to the **Zymo-Spin™ IICR Column** in a new **Collection Tube** and centrifuge at 10,000 x *g* for 1 minute.
9. Add 500  $\mu\text{l}$  **g-DNA Wash Buffer** to the **Zymo-Spin™ IICR Column** and centrifuge at 10,000 x *g* for 1 minute.
10. Transfer the **Zymo-Spin™ IICR Column** to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube and add 100  $\mu\text{l}$  (50  $\mu\text{l}$  minimum) **DNA Elution Buffer** directly to the column matrix. Centrifuge at 10,000 x *g* for 30 seconds to elute the DNA<sup>5, 6</sup>.
11. Place a **Zymo-Spin™ III-HRC Filter** in a clean **Collection Tube** and add 600  $\mu\text{l}$  **Prep Solution**. Centrifuge at 8,000 x *g* for 3 minutes.
12. Transfer the eluted DNA to a prepared **Zymo-Spin™ III-HRC Filter** in a clean 1.5 ml microcentrifuge tube and centrifuge at exactly 16,000 x *g* for 3 minutes.

The filtered DNA is now suitable for PCR and other downstream applications.

---

5In some cases a brown-colored pellet may form at the bottom of the tube after centrifugation. Avoid this pellet when collecting the eluted DNA.

6If fungi or bacterial cultures were sampled, the DNA is now suitable for PCR as well as other downstream applications.

# Appendix

## Optimized Lysis Protocols for Bead-Beating

The following conditions with different mechanical lysis machines were validated with minimum bias using the **ZymoBIOMICS™ Microbial Community Standard**.

1

### Vortex Genie® with 2 ml BashingBead™ Tubes

Recommended for ease of use and accessibility

Use Microtube Adaptor (Scientific Industries, Inc. Cat. No. S5001-7)

1. 40 minutes of continuous bead beating (max of 18 tubes per adaptor)

2

### Bertin Precellys® Evolution with 2 ml BashingBead™ Tubes

Recommended for ease of use and ultra-high speed

1. 1 minute on at 9,000 rpm
2. 2 minutes rest
3. Repeat cycle 4 times for a total of 4 minutes of bead beating

3

### MP Fastprep®-24 with 2 ml BashingBead™ Tubes

Maximum of 20 tubes. The weight of >20 tubes may cause a system error

1. 1 minute on at max speed
2. 5 minutes rest
3. Repeat cycle 5 times for a total of 5 minutes of bead beating

4

### Omni Bead Ruptor® Elite with 2 ml BashingBead™ Tubes

1. 1 minute on at 6 m/s
2. 5 minutes rest
3. Repeat cycle 3 times for a total of 3 minutes of bead beating

5

### Biospec Mini-BeadBeater-16 with 2 ml BashingBead™ Tubes

1. 1 minute at maximum speed
2. 5 minutes rest
3. Repeat cycle 5 times for a total of 5 minutes of bead beating

6

### Biospec Mini-BeadBeater-96 with 2 ml BashingBead™ Tubes

1. 5 minutes on at Max RPM
2. 5 minutes rest
3. Repeat cycle 4 times for a total of 20 minutes of bead beating

7

### Biospec Mini-BeadBeater-96 with 96 well BashingBead™ Lysis Rack

1. 5 minutes on at Max RPM
2. 5 minutes rest
3. Repeat cycle 8 times for a total of 40 minutes of bead beating

X

### TissueLyser II

No tested conditions yielded accurate profiles. This device is not validated by Zymo Research for microbiome research.

X

### TissueLyser LT

No tested conditions yielded accurate profiles. This device is not validated by Zymo Research for microbiome research.

X

### Retsch Mixer Mill MM 400

No tested conditions yielded accurate profiles. This device is not validated by Zymo Research for microbiome research.

# Ordering Information

Product Description	Catalog No.	Size
<b>Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Microprep Kit</b>	D6012	50 Preps.
<b>Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit</b>	D6010	50 Preps.
<b>Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Midiprep Kit</b>	D6110	25 Preps.
<b>Quick-DNA™ Fecal/Soil 96 Kit</b>	D6011	2 x 96 Preps.

Individual Kit Components	Catalog No.	Amount
<b>ZR BashingBead™ Lysis Tubes (0.1 &amp; 0.5 mm)</b>	S6012-50	50 Tubes
<b>BashingBead™ Buffer</b>	D6001-3-40	40 ml
<b>Genomic Lysis Buffer</b>	D3004-1-100	100 ml
<b>DNA Pre-Wash Buffer</b>	D3004-5-15	15 ml
<b>g-DNA Wash Buffer</b>	D3004-2-50	50 ml
<b>DNA Elution Buffer</b>	D3004-4-10	10 ml
<b>Prep Solution</b>	D6035-1-30	30 ml
<b>Zymo-Spin™ III-F Filters</b>	C1057-50	50 Pack
<b>Zymo-Spin™ IICR Columns</b>	C1078-50	50 Pack
<b>OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit</b>	D6030	50 Preps.
<b>Collection Tubes</b>	C1001-50 C1001-500 C1001-1000	50 Pack 500 Pack 1,000 Pack

<b>Lysis Instruments</b>	<b>Catalog No.</b>	<b>Amount</b>
<b>Horizontal Microtube Holder</b>	S5001-7	1 Unit
<b>Vortex-Genie® 2, 120V</b>	S5001	1 Unit
<b>Vortex-Genie® 2, 230V</b>	S5002	1 Unit
<b>Digital Vortex-Genie® 2, 120 V</b>	S5003	1 Unit
<b>Digital Vortex-Genie® 2, 230 V</b>	S5004	1 Unit

The Vortex-Genie® 2 paired with the Horizontal Microtube Holder has been validated for efficient microbial lysis with the ZR BashingBead Lysis Tubes (0.1 & 0.5 mm). See the Appendix for more details.



**100% satisfaction guarantee on all Zymo Research products,  
or your money back.**

Zymo Research is committed to simplifying your research with quality products and services. If you are dissatisfied with this product for any reason, please call 1(888) 882-9682.

---

Integrity of kit components is guaranteed for up to one year from date of purchase.  
Reagents are routinely tested on a lot-to-lot basis to ensure they provide the highest performance and reliability.

This product is for research use only and should only be used by trained professionals. It is not for use in diagnostic procedures. Some reagents included with this kit are irritants. Wear protective gloves and eye protection. Follow the safety guidelines and rules enacted by your research institution or facility.

<sup>TM</sup> Trademarks of Zymo Research Corporation  
Other trademarks: Vortex Genie<sup>®</sup> (Scientific Industries, Inc.), Precellys<sup>®</sup> (Bertin Instruments), Fastprep-24<sup>TM</sup> (MP Biomedicals), Bead Ruptor<sup>®</sup> (Omni International).



ZYMO RESEARCH

The **BEAUTY** of **SCIENCE** is to Make Things **SIMPLE**<sup>®</sup>



[tech@zymoresearch.com](mailto:tech@zymoresearch.com)



[www.zymoresearch.com](http://www.zymoresearch.com)



Toll Free: (888) 882-9682