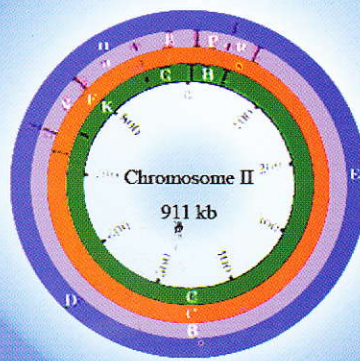
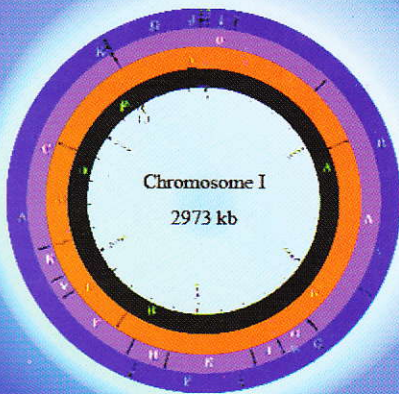




Penerbit Universitas Atma Jaya

Teknik Percobaan dalam Genetika Molekuler



Antonius Suwanto
Susan Soka
Krishna Purnawan Candra

**Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2002
tentang Hak Cipta**

Lingkup Hak Cipta

Pasal 2:

1. Hak Cipta merupakan hak eksklusif bagi Pencipta atau Pemegang Hak Cipta untuk mengumumkan atau memperbanyak Ciptaannya, yang timbul secara otomatis setelah suatu ciptaan dilahirkan tanpa mengurangi pembatasan menurut peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Ketentuan Pidana

Pasal 72:

1. Barangsiapa dengan sengaja atau tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp.1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barangsiapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 tahun dan/atau denda paling banyak Rp.500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

Teknik Percobaan dalam Genetika Molekuler

Penulis: Antonius Suwanto, Susan Soka, Krishna Purnawan Candra

Perancang sampul oleh Christo Okulian
Oktober 2008

Teknik Percobaan dalam Genetika Molekuler
/ oleh Penulis.

Jakarta: Penerbit Universitas Atma Jaya, 2008.
vi, 53 hlm.; 27,94 cm.

1. Teknik Percobaan dalam Genetika Molekuler

I. Judul.

II. Seri.

ISBN 978-979-8850-7

Diterbitkan oleh
Penerbit Universitas Atma Jaya (PUAJ)
Jalan Jenderal Sudirman 51, Jakarta 12930
puaj@atmajaya.ac.id

Hak cipta © dilindungi oleh undang-undang.

KATA PENGANTAR

Pemahaman mahasiswa tentang biologi dan genetika molekuler sangat bergantung pada paparan teknik-teknik utama yang mendasari bidang ilmu biologi yang berkembang pesat ini. Di lain pihak, kegiatan praktikum perlu diselaraskan dengan kondisi laboratorium di Indonesia pada umumnya. Oleh karena itu, penulis berupaya menuliskan penuntun praktikum yang dapat dipraktikkan dan meningkatkan pemahaman materi kuliah mahasiswa. Penuntun ini telah digunakan oleh mahasiswa Institut Pertanian Bogor yang mengambil mata kuliah Rekayasa Genetika atau Genetika Mikrob sejak 1992 sampai sekarang. Selain itu buku ini juga digunakan pada Pelatihan Internasional "Molecular Techniques in Microbial Diversity" di SEAMEO, Biotrop; dan kini secara rutin merupakan Penuntun Praktikum Teknologi DNA di Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta.

Kami berharap buku ini dapat juga berguna untuk meningkatkan pemahaman bioteknologi modern melalui praktik di universitas dan institusi lainnya. Buku ini juga dapat digunakan sebagai acuan bagi para pemula yang ingin mendalami Biologi dan Genetika Molekuler.

Masukan dan komentar dari mahasiswa dan asisten telah memperkaya cakupan dan sistematika buku ini. Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak, terutama mahasiswa-mahasiswa pemakai buku ini, yang telah memberikan inspirasi terus-menerus untuk menerbitkan buku panduan ini. Semoga buku ini dapat menjadi salah satu pelita kecil dalam perjalanan pembangunan bioteknologi modern di Indonesia.

Jakarta, Oktober 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	i
Daftar Isi	iii
Daftar Gambar	v
1 Isolasi DNA Plasmid	1
2 Verifikasi Plasmid dengan Elektroforesis	4
3 Transfer Gen pada Bakteri	11
4 Analisis Gen Penyandi 16S rRNA <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	18
A Isolasi DNA Kromosom <i>R. sphaeroides</i> 2.4.1.....	20
B <i>Polymerase Chain Reaction</i> Gen Penyandi 16S dari DNA Kromosom <i>R. sphaeroides</i>	22
C Purifikasi dan Visualisasi Produk PCR.....	27
D Kloning Gen Penyandi 16S rRNA pada <i>Esherichia coli</i> DH5 α	28
E Isolasi Plasmid Rekombinan dan Pemotongan.....	32
F Sekuensing Gen Penyandi 16S rRNA <i>R. sphaeroides</i> 2.4.1	35
5 Mutagenesis dengan Transposon: Konjugasi.....	38
6 Analisis Mutan dengan <i>Southern Blot</i>	41
7 Analisis Mutan dengan <i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>	49
Daftar Pustaka.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Peta fisik plasmid pBR322.....	9
2 Proses konjugasi: transfer plasmid F dari F+ ke F-.....	12
3 Tahapan transduksi umum.....	15
4 Peta fisik plasmid pGLO (a) dan pGFPuv (b).....	16
5 Peta fisik <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1.....	18
6 Tahapan dalam <i>Polymerase Chain Reaction</i>	24
7 Peta fisik pGEM-T <i>easy vector</i>	28
8 Penempelan <i>insert</i> dengan vektor pada <i>TA cloning</i>	29
9 Susunan alat dalam <i>Southern Blotting</i>	45

DAFTAR PUSTAKA

- Ditta G, Stanfield S, Corbin D, Helsinki DR. 1980. Broad host range DNA cloning system for Gram-negative bacteria: construction of a gene bank of *Rhizobium meliloti*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 77:7347-7351.
- Kreuzer H, Massey A. 2001. *Recombinant DNA and Biotechnology: A Guide for Students*. Washington, D.C: ASM Press.
- Lederberg J and Tatum EL. 1946. Gene recombination in *Escherichia coli*. *Nature* 58:558.
- [NEB] New England Biolabs. 2007a. NEBlot kit: preparation of high specific activity DNA probes using random primers [manual]. <http://www.neb.com/nebecomm/ManualFiles/manualN1500.pdf> [8 Jan 2008].
- [NEB] New England Biolabs. 2007b. NEBlot phototope kit: random primer biotin labeling of DNA for chemiluminescent northern and southern blotting. [manual]. <http://www.neb.com/nebecomm/ManualFiles/manualN7550.pdf> [8 Jan 2008].
- Promega. 2007a. pGEM-T and pGEM-Teasy vector system. [manual]. <http://www.promega.com/tbs/tm042/tm042.pdf> [8 Jan 2008].
- Promega. 2007b. Wizard[®] plus SV minipreps DNA purification system. [manual]. <http://www.promega.com/tbs/tb225/tb225.pdf> [8 Jan 2008].
- Qiagen. 2003a. QIAEXII agarose gel extraction kit. [manual]. <http://www1.qiagen.com/literature/handbooks/literature.aspx?id=1000202> [8 Jan 2008].
- Qiagen. 2003b. Qiaquick nucleotide removal kit. [manual]. <http://www1.qiagen.com/literature/handbooks/literature.aspx?id=1000253> [8 Jan 2008].
- Simon R, Priefer U, Puhler A. 1983. A broad host range mobilization system for *in vivo* genetic engineering: transposon mutagenesis in Gram-negative bacteria. *Bio/Technology*, 1:784-791
- Sambrook J, Russel DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Ed ke-3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Pr.
- Suwanto A, Kaplan S. 1989. Physical and genetic mapping of the *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 genome: presence of two unique circular chromosomes. *J Bacteriol* 171:5850-9.



Susan Soka mendapatkan gelar S1 dalam bidang Kimia dan S2 dalam bidang Biokimia dengan spesialisasi di bidang Molekul Biologi dari Catholic University of Leuven, Belgia. Penelitian S2-nya berjudul Penapisan dan Penerapan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Kadar Trehalosa Tinggi dalam Kondisi Anaerob untuk Fermentasi Bir.

Saat ini, ia adalah staf pengajar di Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta. Bidang penelitian yang ditekuninya ialah Biologi Molekul dalam transformasi tanaman menggunakan gen antikekeringan dari khamir. Nutrigenomika, yang akhir-akhir ini berkembang di

Indonesia, merupakan salah satu bidang yang dikembangkannya. Salah satu penelitian yang sedang dilakukannya ialah Pengaruh Suplemen Ekstrak Daun Katuk terhadap Ekspresi Gen Prolaktin dan Oksitosin pada Mencit Menyusui.



Krishna Purnawan Candra dilahirkan di Surabaya pada tahun 1964. Ia menyelesaikan SD dan SMP nya di kota Balikpapan. Setelah lulus dari SMA yang ditempuh di Surabaya pada tahun 1982, ia diterima tanpa tes melalui program PP2 di Institut Pertanian Bogor. Ia menyelesaikan sarjananya di Jurusan Teknologi Industri Pertanian pada tahun 1987 dan kembali ke daerahnya untuk menjadi dosen di Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman pada tahun 1989. Pada tahun 1990 ia mendapatkan beasiswa TMPD untuk melanjutkan studi S2 di Program Pascasarjana IPB

pada Program Studi Ilmu Pangan. Ia mendapatkan gelar Magister Sains pada tahun 1993 dengan judul tesis Studi Kloning Gen Protease dari *Bacillus stearothermophilus* ke dalam *Escherichia coli*. Ia menjadi asisten dalam beberapa kursus yang berkaitan dengan teknologi transfer DNA yang diselenggarakan oleh PAU Bioteknologi selama kurun 1992-1993. Pendidikan S3-nya diperoleh dari *Agrar und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der Christian-Albrechts Universität zu Kiel*, Jerman pada tahun 2000 dengan beasiswa DAAD. Ia menyelesaikan penelitian dengan tema metabolisme asam sialat dengan mempelajari sialidase dari hati kuda, sebuah enzim yang unik karena merupakan kompleks dengan dua enzim lain, β -galaktosidase dan karboksipeptidase A.



Prof. Antonius Suwanto adalah guru besar di bidang Mikrobiologi dan Genetika Molekul Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia. Beliau mendapatkan gelar Sarjana Teknologi (Ir.) dengan predikat cum laude, dari Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor; serta gelar Master of Science dan Ph.D. di bidang Mikrobiologi Molekul dari University of Illinois, Urbana-Champaign, USA.

Saat ini beliau menjabat sebagai Wakil Ketua Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (Permi), menjadi anggota Asia-Pacific International Molecular Biology Network (A-IMBN), dan perwakilan The American Society for Microbiology (ASM) untuk Indonesia. Beliau juga menjabat sebagai Dekan Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya.

Selama perjalanan kariernya, beliau telah berkontribusi pada pengembangan sejumlah penelitian dan pelatihan di Institute Pertanian Bogor, University of Malaya, National University of Singapore, dan Kasetsart University dan Biotec, Thailand. Prof. Suwanto juga menerima sejumlah penghargaan, termasuk Rockefeller Research Award, International Foundation for Science (IFS), Indonesian Toray Science and Technology Foundation Award, Penghargaan Keanekaragaman Hayati Indonesia (Kehati), dan penghargaan selaku peneliti muda terbaik dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

Prof. Suwanto dikenal dalam dunia sains sebagai peneliti pertama yang melaporkan hadirnya lebih dari satu kromosom dalam prokariota, yang dicapai melalui penelitiannya tentang pemetaan genom bakteri fotosintetik *Rhodobacter sphaeroides* pada tahun 1989. Beliau mendalami bidang Genetika Molekul dan Metagenomika dalam interaksi tanaman dan bakteri, interaksi udang dan mikroorganisme, serta penemuan gen-gen asal mikroorganisme ekstremofil. Penelitian beliau berpotensi untuk aplikasi dalam pengembangan probiotik dan prebiotik yang efektif di bidang pertanian, peternakan, dan perikanan. Selain publikasi di jurnal nasional dan internasional, salah satu hasil penelitiannya telah mendapatkan paten, yaitu tentang formulasi probiotik untuk tanaman.