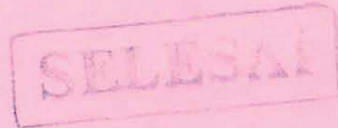


13

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA



1 JUN 2005



LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

PROPAGASI LAMBDA FAGA MENGGUNAKAN TEKNIK TRANSFORMASI-TRANSFEKSI SEBAGAI LANGKA AWAL PENELITIAN BIOLOGIMOLEKULER

Peneliti:

Dr. dr. KUNTAMAN, MS.
Dr. dr. INDRAYANA N.S.,DSF

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2002
S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4879/J03/PG/2001
Tanggal 7 Juni 2002
Nomor Urut: 03

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2002

- IMMUNOGENETICS
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
- MOLECULAR CLONING

KK
KFA
571.9648
Kun
P



LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

PROPAGASI LAMBDA FAGA MENGGUNAKAN TEKNIK TRANSFORMASI-TRANSFEKSI SEBAGAI LANGKA AWAL PENELITIAN BIOLOGIMOLEKULER

Peneliti:

Dr. dr. KUNTAMAN, MS.
Dr. dr. INDRAYANA N.S.,DSF



016604141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2002
S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4879/J03/PG/2001
Tanggal 7 Juni 2002
Nomor Urut: 03

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2002



016604141

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|--------------------------------|-----------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional | 5. Puslit Pengembangan Gizi | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 6. Puslit/Studi Wanita | 10. Puslit/Kesehatan Reproduksi |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum | 7. Puslit Olah Raga | |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup | 8. Puslit Bioenergi | |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247, Fax: (031) 5962066

E-mail: lpunair@rat.net.id-http://www.genocitie.com/Athens/Olympus/6223

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian	
a. Macam Penelitian	: ☒ Fundamental ☐ Terapan ☐ Pengembangan
b. Katagori Penelitian	: ☒ I ☐ II ☐ III
2. Kepala Proyek Penelitian	
a. Nama lengkap dan Gelar	: Dr. Kuntaman, dr., MS., SpMK
b. Jenis Kelamin	: Laki
c. Pangkat/Gol dan NIP	: Pembina Tingkat I/IVB/ 130 783 547
d. Jabatan Sekarang	: Staf Pengajar
e. Fakultas	: Kedokteran
f. Universitas	: Airlangga
g. Bidang Ilmu yang diteliti	: Biologimolekuler
3. Jumlah Tim Peneliti	: 2 orang
4. Lokasi Penelitian	: Tropical Disease Center (TDC) UNAIR
5. Kerjasama dengan Instansi Lain	: -
a. Nama Instansi	:
b. Alamat	:
6. Jangka waktu penelitian	: 5 ½ Bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp. 4.000.000,-
8. Seminar Hasil Penelitian	
a. Dilaksanakan tanggal	: 12 Juni 2003
b. Hasil Penelitian	: () Baik Sekali (V) Baik () Sedang () Kurang

Surabaya, 30 Juni 2003

Mengetahui/Mengesahkan a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,



Prof. Dr. H. Sarmanu, MS
NIP. 130 701 125

RINGKASAN PENELITIAN

PROPAGASI LAMBDA FAGA MENGGUNAKAN TEKNIK TRANSFORMASI TRANSFEKSI SEBAGAI LANGKAH AWAL PENELITIAN BIOLOGIMOLEKULER (Kuntaman dan Indrayana NS)

Elektroforesis DNA untuk visualisasi DNA merupakan bagian esensial pada penelitian biologimolekuler. Satu tahapan terpenting adalah bisa mengetahui ukuran DNA yang dicari. Untuk itu dibutuhkan Marka DNA sebagai alat penera.

Salah satu bahan untuk pembuatan Marka DNA tersebut adalah faga lambda. Marka DNA yang dijual secara komersial adalah faga Lambda yang dipotong dengan enzim HindIII, menjadi 9 potongan dengan ukuran dari 500 bp sampai dengan 23 kb.

Tujuan penelitian awal ini adalah akan melakukan perbanyakan DNA faga Lambda dengan menggunakan teknik transformasi-transfeksi. Seberapa jauh keberhasilan teknik ini di laboratorium Tropical Disease Center Universitas Airlangga.

Metode pembiakan faga adalah transformasi-transfeksi. Dipergunakan *Escherichia coli* LE392. *E. coli* dibuat kompeten menggunakan metode kalsium klorid (Calcium Chloride = CaCl_2) dan transformasi dilakukan dengan 'Heat shock' 42 C selama 2 menit. Transfeksi dilakukan dengan menumbuhkan bersama *Escherichia coli* LE 392 yang telah dibiakkan dalam media LMM, yakni LB broth yang mengandung Maltose 0,2% dan MgSO_4 1 mM. Hasil transformasi-transfeksi dibiakkan pada 'top agar' dan dieramkan suhu 37 C semalam. Isolasi DNA faga dilakukan dengan melarutkan 'top agar' dengan larutan CMS dan isolasi dilakukan dengan menggunakan larutan STE dan PEG-8000.

Hasil menunjukkan bahwa setelah pengeraman semalam ditemukan adanya plak sebanyak 20 per lempeng agar atau 400 *Escherichia coli* yang terinfeksi faga Lambda. Setelah dilakukan sub-kultur daerah plak ke dalam suspensi *Escherichia coli* LE 392 yang telah diinduksi maltose dan MgSO_4 didapatkan adanya plak yang sangat banyak. Isolasi genom faga dari 'top agar' menunjukkan pita DNA dengan ukuran sama dengan DNA asal.

ABSTRACT

**LAMBDA PHAGE PROPAGATION USING METHOD OF
TRANSFORMATION-TRANSFECTION AS A BASIC STEP
ON MOLECULARBIOLOGY RESEARCH (Kuntaman and Indrayana NS)**

Gel electrophoresis is an essential step on molecularbiology research. The one important step is how to measure the DNA fragment size, that need the DNA Marker. The selected substance that is usually used as a source for making of the DNA Marker is Lambda phage DNA. Commercially product of it had been sold elsewhere, and is made by cutting Lambda phage DNA using HindIII enzyme.

The aim of this research is how to propagate Lambda phage DNA by using method of transformation-transfection. This research was conducted in Laboratory of Tropical Disease Center (TDC) Airlangga University.

Lambda phage DNA was get from Sigma and Escherichia coli strain LE-392 was used as a host. The competent cell of Escherichia coli was prepared by method of Calcium Chloride treatment. Heat shock was done by heating 42 C for two minutes. Prior for transfection, Escherichia coli LE392 was cultured overnight in LB broth with addition of Maltose 0,2% and MgSO₄ 1 mM. Culture of phage infected Escherichia coli was conducted on top agar. Isolation of phage DNA was performed by scrabing of top agar by CMS solution and DNA isolation by using STE and PEG-8000 solution.

The result shows that after overnight incubation, was identified as much as 20 plaque per plate or 400 phage infected Escherichia coli per milliliter solution. After sub-culture of phage infected Escherichia coli with addition of maltose induced Escherichia coli LE392, was get abundant of plaque on the plate culture. The isolation of genome of phage from top agar shows a band of DNA in the same size with the original Lambda phage DNA size.

Keywords: DNA Marker, Lambda phage, transformation, transfection



KATA PENGANTAR

Penelitian dengan judul PROPAGASI LAMBDA FAGA MENGGUNAKAN TEKNIK TRANSFORMASI-TRANSFEKSI SEBAGAI LANGKAH AWAL PENELITIAN BIOLOGIMOLEKULER, merupakan penelitian tahap awal untuk melakukan berbagai penelitian biologimolekuler khususnya dalam kaitan pemanfaatan faga, misalnya untuk pembuatan marker DNA maupun kloning gen. Dengan selesainya penelitian ini peneliti mengucapkan syukur ke hadirat Tuhan YME atas segala rakhmatnya.

Penelitian ini dibiayai oleh dana DIK Rutin UNAIR tahun 2002. Untuk itu kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Airlangga Prof. Puruhito, Ketua Lembaga Penelitian UNAIR, Prof. Dr. Sarmanu, drh. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran UNAIR Prof. Dr. H.M.S. Wiyadi, dr., SpTHT.

Bersama ini pula kami sampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, MSc sebagai Direktur Tropical Disease Centre (TDC) atas segala perkenannya sehingga kami bisa melakukan penelitian di TDC. Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Pak Choesen, Sdri. Endah dan Helen yang banyak membantu penelitian kami tersebut. Semoga bermanfaat bagi kita semua, dan semoga Tuhan YME selalu melimpahkan rakhmatnya.

Peneliti

DAFTAR ISI

	Hal
1. Judul	i
2. Ringkasan dan <i>Abstract</i>	ii
3. Kata pengantar	v
4. Daftar Isi	vi
5. Daftar Gambar	vii
6. Daftar Lampiran	vii
7. BAB I. PENDAHULUAN	1
1) Latar Belakang	2
2) Rumusan Masalah	2
3) Tujuan penelitian	2
4) Hipotesis	3
6. BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
7. BAB III METODE PENELITIAN	10
8. BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	13
9. BAB V SIMPULAN DAN SARAN	14
10. DAFTAR PUSTAKA	

Daftar Gambar

Gambar	Hal
Gambar 1:	9
Tahapan masuknya DNA faga melalui proses transformasi-transfeksi, dari bentuk DNA telanjang sampai menjadi faga utuh yang dilengkapi envelope. (9)	
Gambar 2	10
Pertumbuhan faga pada <i>Escherichia coli</i> galur LE392 dengan pembentukan plak (Gambar B), dan kontrol tanpa faga (Gambar A) (10)	
Gambar 3:	11
Hasil Elektroforesis isolat DNA faga lambda dari <i>Escherichia coli</i> LE392 (Hasil pengecatan perak)	

Daftar lampiran:

Lampiran 1: Daftar reagen dan komponen penyusun	14
--	----