

LIFE SCIENCE GAZETTE



Nature Barcoding

Fungal & Bacterial
DNA Barcoding

Volume 1
June 2024



LIFE SCIENCE GAZETTE

Nature Barcoding

Fungal & Bacteria DNA Barcoding

Volume 1
June 2024

PT. Genetika Science Indonesia

Rukan Great Wall Blok C No. 19-21
Green Lake City, Kel. Petir, Kec. Cipondoh,
Kota Tangerang, Banten 15147, Indonesia.

+62 21 5433 2034
+62 21 5433 2425
+62 21 5433 2701

www.ptgenetika.com
www.instagram.com/genetikascience
www.linkedin.com/company/genetikascience/
www.facebook.com/GenetikaScience/

Editor

Jenney Chen

Writers

Marvel Lewi Santoso, Nisrina Thufailah Hakim,
Yonadita Pramesti & Nurina Indirayati

Graphic Designer & Layouter

Owen Distyan Pusponegoro

ALL ABOUT FUNGI AND BACTERIA

Hundreds stuff in few pages. Genius, isn't it?

Num endi dendelibus sunt temporum lam es accumquis
ma volupta tempore volerep udigent iisque. Et
voluptat. Itatus id modio. Nequos eos enim vellitibus
maio doluptate ma doleseribus.

Te dio. Et omnimil evellora solest di re pore niatias inullor
epeleni mporionsequi qui tempostius.

Ecto ommoloreptas voluptatur autem ipsae maion
necuptatini idus eatem electatus, corernatur min ea
veri consequas vendusd anduciliquam facest exerchi
cimoluptas mos qui sum doluptae num sit la velent, tem
demqui te voluptiat omnis essum.



DAFTAR ISI

ARTIKEL MENARIK

<i>Cyanobacterial Blooms</i>	15
<i>Plastic Eating Bacteria</i>	23
<i>Self-healing Microbial pada Retakan Beton</i>	29



PREPARASI SAMPEL

6 Tahapan Koleksi Sampel Bakteri atau Fungi yang Baik	04
<i>Save Your Precious Samples with DNA/RNA™ Shield</i>	05

EKSTRAKSI DNA

<i>How to Get The Barcode DNA Extraction</i>	07
Kit Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi	11
<i>High and Good Quality DNA is Everything!</i>	13

KLONING MOLEKULER

Kloning Molekuler	19
<i>One-Stop Solution DNA Cloning Catalog</i>	21

SANGER SEQUENCING

<i>Discover DNA's Story - Sanger Sequencing</i>	25
Peran Sanger Sequencing dalam DNA Barcoding	26
Sanger Sequencing Memerankan Peran Sentral dalam DNA Barcoding	28
<i>Sanger Sequencing Service & Learning Program</i>	29

PCR

Penggunaan DNA dalam Barcoding	32
<i>PCR Master Mix Catalog</i>	34
Visualisasi Akurat Setiap Pita - Reagen Elektroforesis	36

MARKA GENETIK

Marka Genetik	37
DNA Barcoding Service	41



Persiapan Sampel yang Baik adalah Tahap Awal dari DNA Barcoding

All the Sample Prep You Need to Know!

Koleksi sampel yang baik sangat penting dilakukan untuk memastikan kualitas data dan juga mencegah kontaminasi. Sampel dengan kualitas yang baik akan menghasilkan data dengan kualitas yang baik juga, sedangkan kontaminasi dapat mengganggu integritas sampel dan juga dapat menyebabkan data yang dihasilkan menjadi tidak akurat.

6 Tahapan Koleksi Sampel Bakteri atau Fungi Yang Baik



1. **PERLENGKAPAN**

Untuk meminimalkan risiko kontaminasi gunakan sarung tangan dan masker.



2. **SAMPEL LINGKUNGAN**

Gunakan kapas, pipet, dan tabung koleksi steril untuk mengambil sampel dari lingkungan.



3. **SAMPEL PERMUKAAN**

Untuk sampel permukaan, usap permukaan menggunakan kapas steril secara hati-hati, kemudian masukan kapas tersebut ke dalam tabung koleksi steril.



4. **SAMPEL CAIRAN**

Untuk sampel cairan, koleksi sejumlah volume sampel cair tersebut dengan menggunakan pipet steril ke dalam tabung koleksi steril.



5. **PEMBERIAN LABEL**

Beri label setiap sampel dengan informasi yang penting, termasuk ID sampel, tanggal pengambilan, lokasi, dan informasi lainnya.



6. **PENYIMPANAN SAMPEL**

Menyimpan sampel dengan baik selama pengiriman ke laboratorium. Preservasi sampel dapat dilakukan dengan pendinginan, pembekuan atau pengeringan.

Setelah sampel sampai di laboratorium, tahap selanjutnya adalah mengkultur sampel tersebut untuk mendapatkan koloni bakteri atau fungi murni. Proses kultur dimulai dengan melakukan *streak* sampel ke dalam cawan petri berisi media tumbuh. Selanjutnya cawan petri diinkubasi dengan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri atau fungi selama periode waktu tertentu. Setelah diinkubasi, kemudian diamati koloni – koloni yang terbentuk. Setiap koloni yang berbeda kemudian dikultur kembali ke cawan petri baru untuk mendapatkan koloni tunggal. Setelah didapatkan koloni tunggal bakteri atau fungi, cawan petri tersebut kemudian dapat disimpan untuk digunakan pada tahap *DNA Barcoding* selanjutnya (YP).

Save Your PRECIOUS SAMPLES

Save Your Precious Samples with

DNA/RNA Shield™

Riset yang baik dimulai dengan koleksi sampel yang bagus. Kualitas sampel sangat penting untuk akurasi dan keandalan hasil penelitian

Zymo Research dengan DNA/RNA Shield™ membuat proses pengambilan dan preservasi sampel menjadi sederhana serta mudah. Perangkat dan kit koleksi Zymo Research dirancang untuk meningkatkan pengambilan dan preservasi sample. DNA/RNA Shield™ adalah reagen stabilisasi DNA dan RNA untuk asam nukleat dalam sampel biologis apa pun.

DNA/RNA Shield™ ini mampu menjaga integritas genetik dan profil ekspresi sampel pada suhu ruang dan sepenuhnya menonaktifkan agen infeksi (virus, bakteri, jamur, & parasit). DNA/RNA Shield™ juga mencegah degradasi dari siklus pembekuan-pencairan dan kegagalan freezer yang tidak terduga.

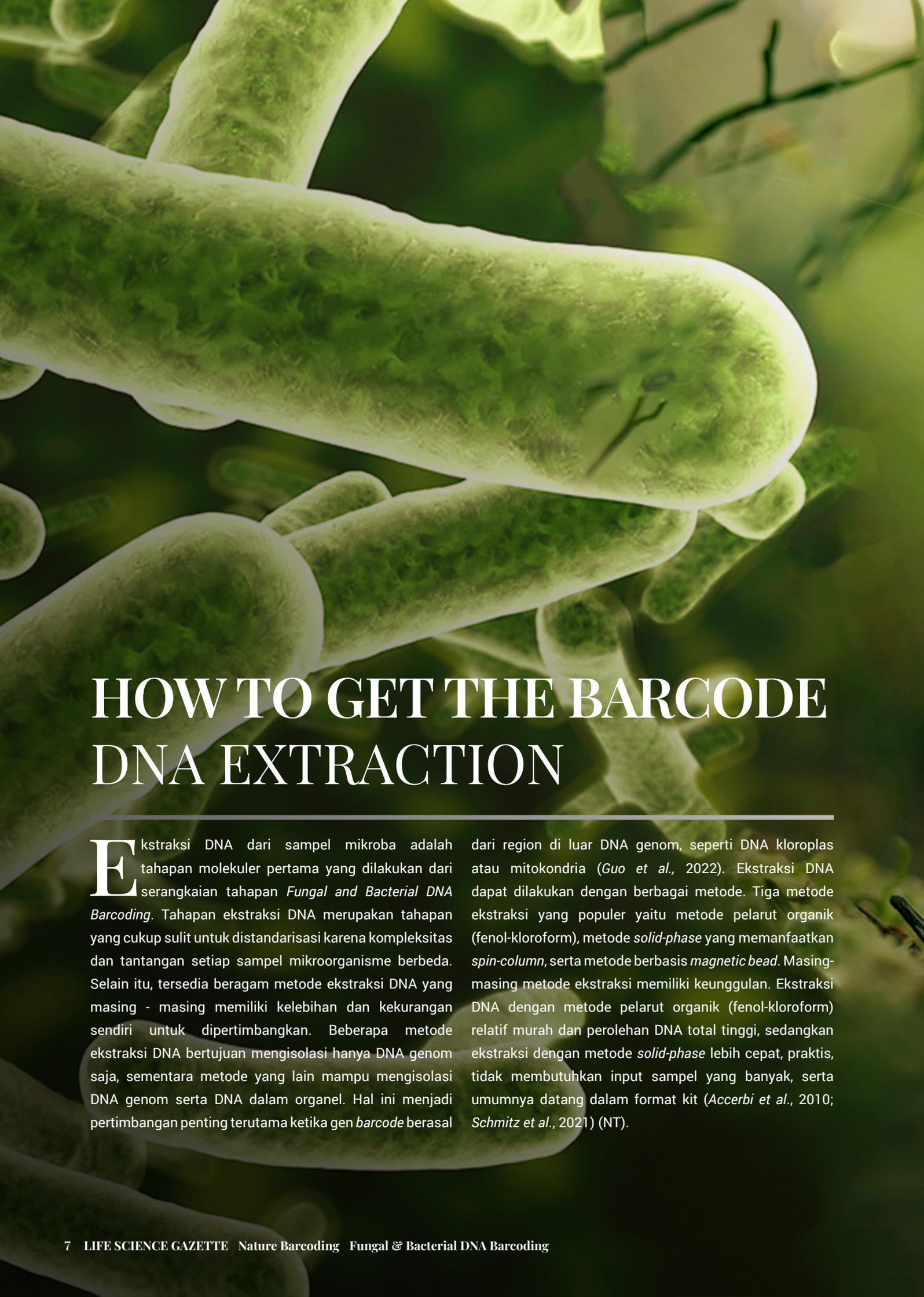




Zymo Research juga menyediakan DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit. Banyak jenis sampel dapat dikumpulkan dengan kit ini termasuk dari mulut, hidung, tenggorokan, dan pada permukaan apapun. Penggunaan DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit ini cukup mudah dengan mengusap sampel apa pun dan pecahkan ujungnya ke dalam perangkat tube yang sudah terisi dengan reagen DNA/RNA Shield™. Sampel akan aman disimpan pada suhu ruang.



Variant	Code
DNA/RNA Shield™ 50 ml	R1100-50
DNA/RNA Shield™ 250 ml	R1100-250
DNA/RNA Shield™ (2X Concentrate) (25 ml)	R1200-25
DNA/RNA Shield™ (2X Concentrate) (25 ml)	R1200-25
DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit, 1ml (10 pack)	R1160-10
DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit, 2ml (10 pack)	R1161-10
DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit, 1ml (50 pack)	R1160-50
DNA/RNA Shield™ SafeCollect Swab Collection Kit, 2ml (50 pack)	R1200-50



HOW TO GET THE BARCODE DNA EXTRACTION

Ekstraksi DNA dari sampel mikroba adalah tahapan molekuler pertama yang dilakukan dari serangkaian tahapan *Fungal and Bacterial DNA Barcoding*. Tahapan ekstraksi DNA merupakan tahapan yang cukup sulit untuk distandarisasi karena kompleksitas dan tantangan setiap sampel mikroorganisme berbeda. Selain itu, tersedia beragam metode ekstraksi DNA yang masing - masing memiliki kelebihan dan kekurangan sendiri untuk dipertimbangkan. Beberapa metode ekstraksi DNA bertujuan mengisolasi hanya DNA genom saja, sementara metode yang lain mampu mengisolasi DNA genom serta DNA dalam organel. Hal ini menjadi pertimbangan penting terutama ketika gen *barcode* berasal

dari region di luar DNA genom, seperti DNA kloroplas atau mitokondria (Guo et al., 2022). Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode. Tiga metode ekstraksi yang populer yaitu metode pelarut organik (fenol-kloroform), metode *solid-phase* yang memanfaatkan *spin-column*, serta metode berbasis *magnetic bead*. Masing-masing metode ekstraksi memiliki keunggulan. Ekstraksi DNA dengan metode pelarut organik (fenol-kloroform) relatif murah dan perolehan DNA total tinggi, sedangkan ekstraksi dengan metode *solid-phase* lebih cepat, praktis, tidak membutuhkan input sampel yang banyak, serta umumnya datang dalam format kit (Accerbi et al., 2010; Schmitz et al., 2021) (NT).





Gambar diatas merupakan Ilustrasi Metode *Magnetic Beads*

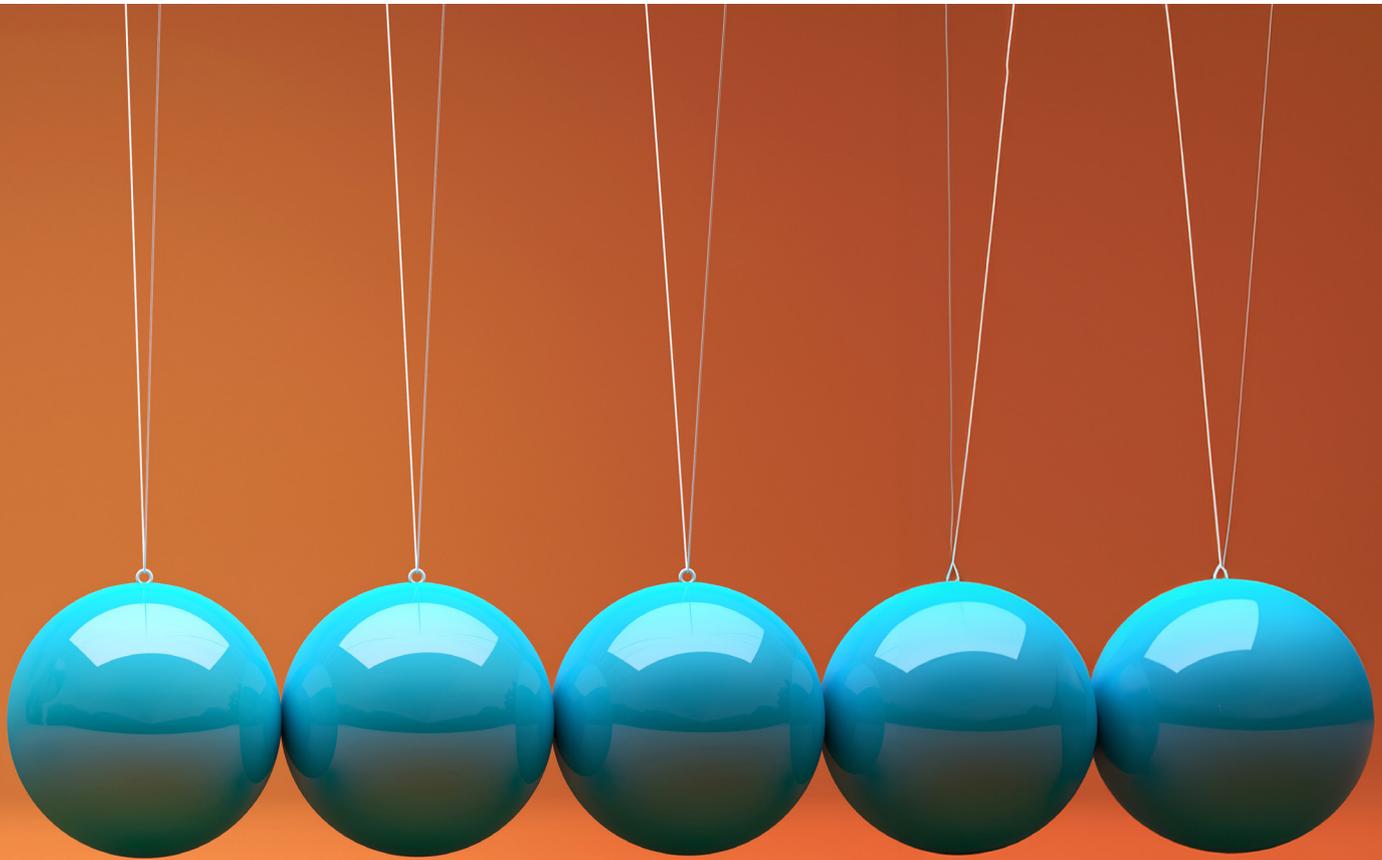
Metode Pelarut Organik

Metode pelarut organik adalah metode konvensional yang menggunakan bahan kimia organik untuk mengisolasi DNA. Salah satu pelarut organik yang banyak digunakan yaitu fenol dan kloroform. Metode pelarut organik dengan fenol-kloroform adalah metode yang melibatkan pencampuran larutan fenol dan kloroform dengan sampel sebelum dilanjutkan dengan sentrifugasi. Setelah sentrifugasi, campuran akan terbagi menjadi tiga fasa; fasa paling atas (*fasa aqueous*) adalah fasa yang mengandung DNA, dan dua fasa di bawahnya yaitu fasa interfase adalah fasa yang berisi protein dan fasa organik adalah fasa yang berisi lipid dan fenol. *Fasa aqueous* akan dipisahkan dari fasa interfase dan fasa organik. Selanjutnya, DNA dapat dipresipitasi dengan menambahkan isopropanol atau etanol beserta *buffer* dengan konsentrasi garam yang tinggi. Setelah dicuci dengan etanol 70% untuk menghilangkan sisa etanol atau isopropanol, DNA diperoleh dengan cara dilarutkan dalam *buffer* TE atau ddH₂O steril (Buckingham, 2019; Chomczynski & Sacchi, 2006; Shin, 2012). Keuntungan

utama dari metode *fenol-kloroform* adalah biayanya yang terjangkau dengan perolehan DNA yang melimpah. Akan tetapi, keterbatasan dari metode ini yaitu dibutuhkan waktu sentrifugasi yang agak lama untuk pemisahan fasa serta langkah pemipetan fasa yang perlu dilakukan secara hati-hati untuk menghindari pencampuran dan kontaminasi silang antara *fasa aqueous*, organik, dan interfase.

Metode *Spin-column*

Metode *spin-column* adalah metode ekstraksi yang tergolong ke dalam metode solid-phase. Metode *solid-phase* pertama kali diperkenalkan oleh McCormick *et al.* di tahun 1989. Prinsip metode *solid-phase* yakni memanen DNA dengan memanfaatkan interaksi DNA dengan suatu fasa solid, yang paling umum digunakan yaitu silika. Silika memiliki muatan positif dan dapat berikatan kuat dengan DNA yang bermuatan negatif dengan penambahan larutan *buffer* tertentu, sehingga dapat memfasilitasi purifikasi DNA dengan cepat, murni, dan kuantitatif. Dalam metode *spin-column*, sampel lisat yang sudah



dicampur dengan *binding buffer* dimasukkan ke dalam kolom yang berisi membran silika. *Binding buffer* berfungsi untuk menunjang adsorpsi DNA pada membran silika. Kemudian *spin-column* disentrifugasi atau dihubungkan dengan vakum. Sentrifugasi atau vakum memaksa larutan melewati membran silika yang berada di dalam *spin-column*, dimana pada kondisi pH yang tepat, akan mengakibatkan DNA berikatan dengan membran silika. Tahap selanjutnya DNA yang berikatan pada *column* akan dicuci untuk dibersihkan dari kontaminan protein dan garam, lalu dielusi dengan *buffer TE* untuk melepas DNA dari membran (McCormick, 1989; Shin, 2012). Metode *spin-column* hingga saat ini menjadi metode ekstraksi asam nukleat yang paling banyak digunakan.

Metode *Magnetic beads*

Bentuk lain metode *solid-phase* yaitu metode ekstraksi berbasis *magnetic beads*. *Magnetic beads* adalah manik-manik (*beads*) dengan inti paramagnetik, biasanya dilapisi dengan silika untuk mengikat asam nukleat. Setelah lisis

sel, *magnetic beads* ditambahkan ke dalam sampel lisat sehingga DNA yang tercampur dalam lisat dapat berikatan dengan *magnetic beads*. Selanjutnya magnet dipasang pada sisi luar *tube* atau *well* yang berisi sampel. *Magnetic beads* yang terikat dengan DNA, tertarik ke sisi tabung oleh medan magnet, menyisahkan supernatan yang mengandung protein dan kontaminan lain yang tidak terikat (Hamdeh *et al.*, 2020). Kontaminan dibuang dengan hati-hati sementara *magnetic beads* yang mengikat DNA tetap menempel pada sisi tabung. *Magnetic beads* yang mengikat DNA dicuci beberapa kali dengan *washing buffer* untuk menghilangkan sisa kotoran dan kontaminan. *Washing buffer* biasanya mengandung alkohol atau pelarut lain yang membantu membersihkan *magnetic beads* tanpa mengganggu DNA. Setelah dicuci, *magnetic beads* disuspensikan ke dalam *elution buffer*. *Elution buffer* memiliki komposisi dan pH sedemikian rupa yang dapat mengganggu interaksi antara DNA dan *magnetic beads*, menyebabkan DNA terlepas dari *magnetic beads* dan larutan DNA dapat diperoleh. Konsentrasi, kemurnian, serta biaya yang dibutuhkan untuk metode ekstraksi berbasis *magnetic bead* mirip dengan metode *spin-column*. Akan tetapi, kelebihan metode ini bila dibandingkan dengan *spin-column* yaitu tidak diperlukan sentrifugasi berulang atau filtrasi vakum. Metode *magnetic beads* juga cepat, sederhana, mudah, serta dapat digunakan pada ekstraksi DNA otomatis (Shin, 2012) (NT).

Cepat, Efisien, dan Berkualitas Tinggi

Kit Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi

Kit Ekstraksi DNA Bakteri dan Fungi yang kami tawarkan akan memudahkan dan **mempercepat proses ekstraksi**, menghasilkan **DNA berkualitas tinggi** yang siap untuk berbagai aplikasi molekuler.





Zymo Research

Quick-DNA™ HMW Magbead Kit

Quick-DNA™ HMW Magbead Kit adalah metode termudah untuk ekstraksi DNA dengan berat molekul tinggi dari sampel apa pun (termasuk cairan biologis, kultur sel, dan jaringan). Quick-DNA™ HMW Magbead kit mampu menghasilkan DNA genomik ultra-murni dan terkonsentrasi hingga 150 kb.

Catalog Number:

Quick-DNA™ HMW Magbead Kit 96 preps (D6060)



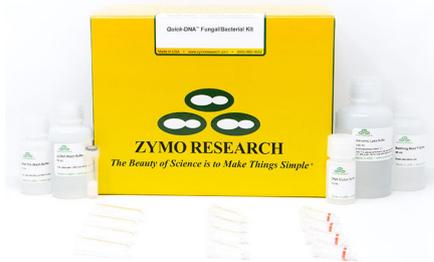
Zymo Research

YeaStar™ Genomic DNA Kit

YeaStar™ Genomic DNA Kit dirancang untuk isolasi DNA genomik yang andal dan efisien dari berbagai spesies jamur. YeaStar™ Genomic DNA Kit mampu menghasilkan genomik DNA dengan perolehan sekitar 7 - 20 µg DNA dengan ukuran panjang 35 - 60 kb.

Catalog Number:

YeaStar™ Genomic DNA Kit (40 preps) (D2002)



Zymo Research

Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Kit

Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Kit dirancang untuk isolasi DNA dengan mudah dan cepat dari jamur yang sulit untuk dilisis, termasuk *A. fumigatus*, *C. albicans*, *N. crassa*, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, serta bakteri Gram (+/-), ganggang, dan protozoa.

Catalog Number:

Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Midiprep Kit (25 Preps) (D6005)

Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit (50 Preps) (D6105)



Thermo Scientific

GeneJET Genomic DNA Purification Kit

Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit dirancang untuk pemurnian DNA genomik berkualitas tinggi dengan cepat dan efisien dari berbagai kultur sel mamalia dan sampel jaringan, darah, bakteri, dan ragi.

Catalog Number:

GeneJET Genomic DNA Purification Kit (50 preps) (K0721)

GeneJET Genomic DNA Purification Kit (250 preps) (K0722)

High and Good Quality DNA is Everything!

Kualitas hasil ekstraksi DNA dapat berpengaruh dalam aplikasi hilir penggunaan DNA, seperti PCR. Oleh karena itu, perlu dilakukan kontrol kualitas hasil ekstraksi DNA untuk mengevaluasi kuantitas, integritas, dan kemurnian hasil ekstraksi DNA.

Kemurnian DNA

DNA dapat menyerap cahaya tampak (UV) pada panjang gelombang 260 nm. Adapun berbagai jenis asam amino memiliki absorbansi di panjang gelombang 280 nm, sedangkan kontaminan lain seperti senyawa organik, urea, dan garam dapat menyerap panjang gelombang 230 nm. Untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA dari kontaminannya, larutan DNA dapat diukur nilai absorbansinya pada rasio A260/280 dan A260/230. Sampel DNA murni memiliki nilai rasio absorbansi A260/230 sebesar ~1.8 sedangkan RNA murni memiliki kemurnian A260/280 sebesar ~2.0. Inhibitor dapat diukur dengan melihat kemurnian sampel pada rasio A260/230, sampel RNA dan DNA murni memiliki nilai sebesar ~1.8-2.2.

Kuantitas DNA

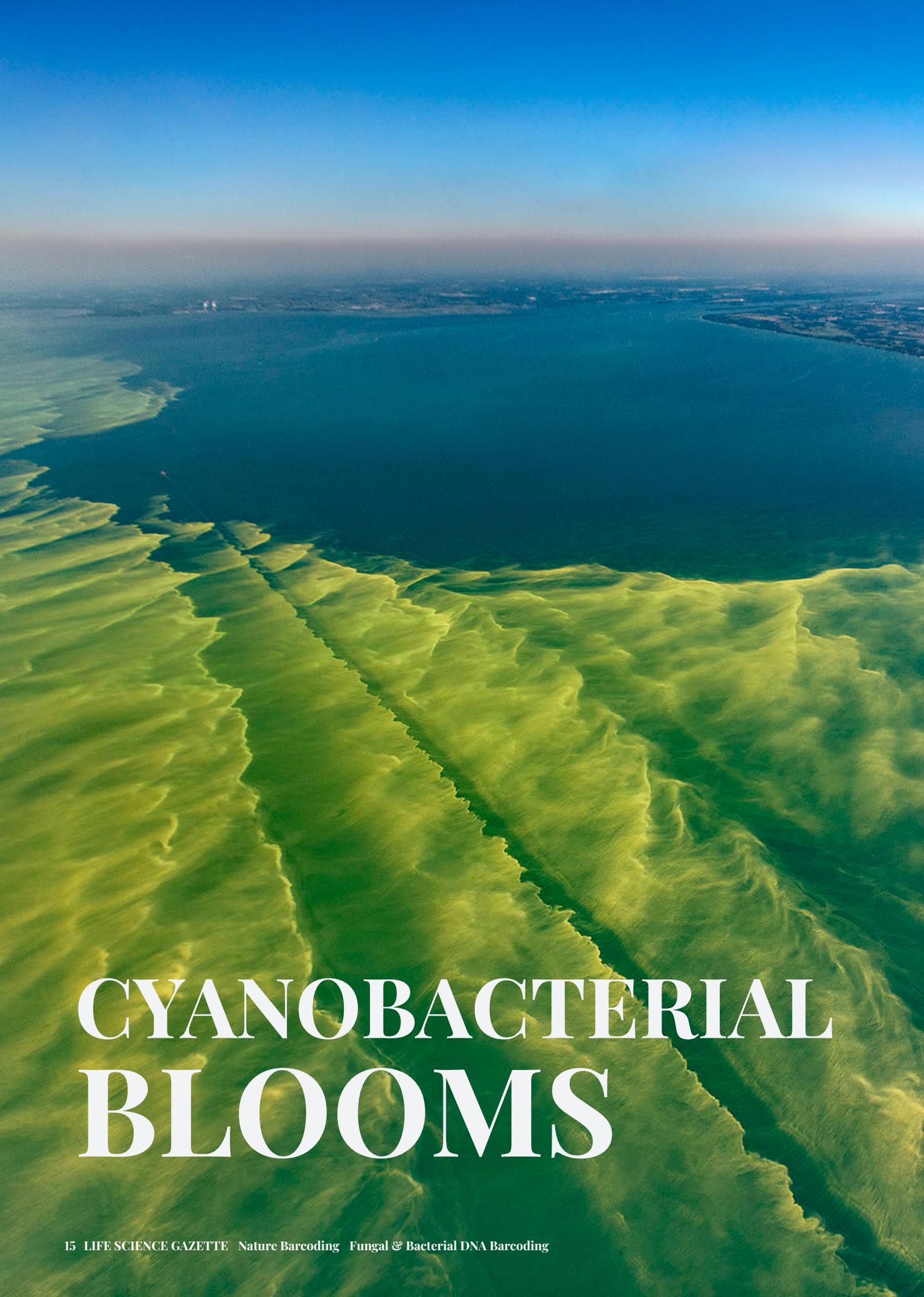
Kuantifikasi DNA dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu mengukur absorbansi DNA pada panjang gelombang 260 nm, memanfaatkan elektroforesis gel kapiler, atau DNA binding dyes yang telah dilabel fluoresens. Pengukuran absorbansi DNA pada panjang gelombang 260 nm adalah metode yang paling sederhana dan mudah, tetapi hanya memberikan perkiraan kuantitas DNA dalam larutan. Metode lain yang lebih akurat yakni dengan elektroforesis gel kapiler dan pelabelan DNA menggunakan fluoresens. Kedua metode ini memiliki prinsip kerja yang serupa dimana DNA dilabel dengan menggunakan fluoresens, kemudian kuantitas DNA ditentukan berdasarkan hasil pengukuran intensitas sinyal fluoresens.



Integritas DNA

Pengecekan integritas DNA dilakukan untuk mengetahui apakah DNA terekstraksi dalam bentuk utuh (*intact*) atau terdegradasi. Integritas DNA dapat dievaluasi menggunakan elektroforesis gel agarose ataupun elektroforesis kapiler. Elektroforesis adalah teknik molekuler berupa pemisahan molekul asam nukleat berdasarkan ukurannya dengan memanfaatkan medan listrik, dimana asam nukleat yang memiliki muatan negatif akan bermigrasi menuju kutub anoda (positif) (Yilmaz *et al.*, 2012). Pada elektroforesis gel agarose, DNA disepariasi dengan memanfaatkan medium gel yang terbuat dari agarose; heteropolisakarida dari spesies rumput laut merah. Apabila ekstraksi DNA total memiliki integritas yang baik, hasil elektroforesis akan menunjukkan *single band* yang terang, tajam, dengan ukuran yang lebih besar dibandingkan pita berukuran 10 kb pada DNA *ladder*. Pada elektroforesis gel kapiler, DNA diberi label fluoresens dan dipisahkan berdasarkan ukurannya menggunakan gel kapiler. Hasil pemisahan DNA ditampilkan dalam bentuk elektroferogram. DNA dengan integritas yang baik akan menunjukkan puncak yang tegas di atas *ladder* ukuran terbesar, serta nilai DIN (*DNA Integrity Number*) ≥ 9 (Gassmann & Mchoull, 2015; Jaudou *et al.*, 2022). (NT).





CYANOBACTERIAL BLOOMS



Nature's Aquatic Art

Cyanobacterial Bloom

Beauty in Blue

Cyanobacteria atau *blue-green algae* adalah bakteri gram negatif yang merupakan kelompok bakteri pertama yang ditemukan di bumi jutaan tahun lalu. *Cyanobacteria* adalah prokariot fotoautotrof, yaitu kelompok bakteri yang mampu melakukan fotosintesis; memanfaatkan cahaya untuk membentuk senyawa organik dari karbon dioksida. Habitat *Cyanobacteria* lebih banyak di perairan air tawar, tetapi dapat juga ditemukan di perairan air payau dan air laut.

Pertumbuhan *Cyanobacteria* yang meledak di perairan disebut "*Cyanobacterial blooms*" atau "*Cyanobacteria Harmful Algal Blooms (CyanoHABS)*". Pertumbuhan yang pesat ini dapat membahayakan manusia, hewan, serta lingkungan. *Cyanobacterial blooms* dapat terbentuk kapan saja, tetapi pada negara empat musim, paling sering terbentuk pada akhir musim panas atau awal musim gugur. *Cyanobacterial blooms* dapat terlihat secara kasat mata atau mungkin juga tidak terlihat.

Cyanobacterial blooms dapat terlihat seperti busa, sampah yang mengapung, atau tikar hijau. *Bloom*-nya sendiri bisa berwarna biru, hijau cerah, coklat, atau merah. Dalam beberapa kasus, *Cyanobacterial blooms* menghasilkan bau yang unik yang serupa dengan tanaman busuk. Beberapa genus *Cyanobacteria* yang umum menyebabkan *Cyanobacterial blooms* yaitu *Microcystis*, *Nodularia*, *Dolichospermum* dan *Trichodesmium*.

Cyanobacterial blooms dapat membunuh biota perairan dengan menutupi permukaan air dan menghalangi sinar matahari yang mendukung kelangsungan hidup hewan air. *Cyanobacteria* juga menghasilkan toksin yang disebut *cyanotoxin*. *Cyanotoxin* adalah salah satu toksin yang dikenal paling beracun diantara toksin alami yang lain. Toksin ini dapat mengakibatkan gejala keracunan pada manusia dan hewan, meski yang dialami oleh hewan bisa lebih parah dari manusia, termasuk pingsan hingga kematian mendadak. Adapun gejala yang sudah ditemukan pada manusia di antaranya sakit perut, mual, muntah, sakit kepala, diare, kesemutan, produksi air liur berlebih, hingga gangguan bicara, tergantung dengan paparan jenis *cyanotoxin* yang dialami.

Selain itu, *cyanotoxin* dapat membuat hewan air tawar dan laut tidak aman untuk dikonsumsi, sehingga fenomena *Cyanobacterial blooms* akan berdampak pada masyarakat dan industri yang bergantung pada hasil perairan. *Cyanobacterial blooms* juga mengakibatkan pengolahan air minum menjadi lebih mahal. Sayangnya, belum ada tes diagnostik spesifik ataupun penanganan khusus untuk mengatasi dampak *Cyanobacterial blooms* (NT).

KLONING MOLEKULER

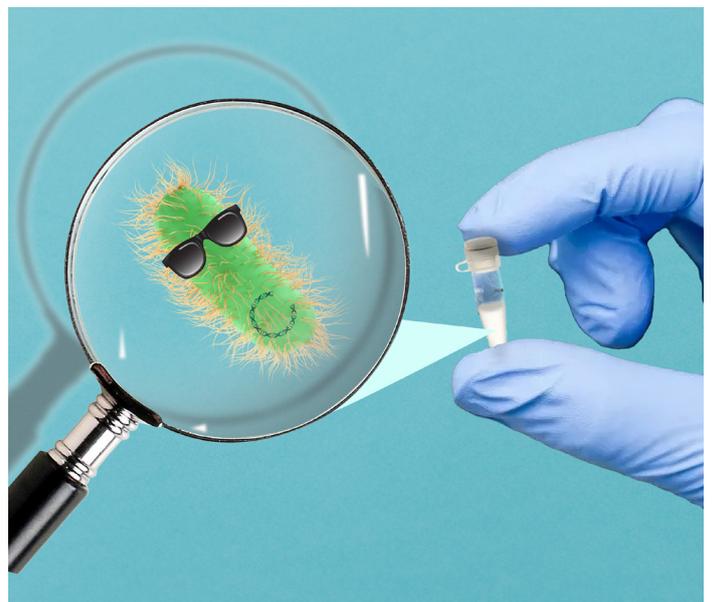
Kloning molekuler adalah teknik yang digunakan untuk preservasi dan juga propagasi suatu segmen DNA. Kloning molekuler dilakukan dengan menyisipkan segmen DNA kedalam suatu vektor dan kemudian memanfaatkan organisme inang untuk mereplikasi vektor tersebut. Segmen DNA yang dikloning dapat disimpan dalam jangka waktu yang panjang dalam bentuk kultur bakteri atau *yeast*. Kultur ini berfungsi sebagai tempat penyimpanan untuk segmen DNA tersebut, dan juga sebagai sumber segmen DNA yang dapat diperbarui untuk eksperimen di masa depan. Berikut tahapan *molecular cloning*:

PENYISIPAN SEGMENT DNA PADA VECTOR

Segmen DNA terlebih dahulu diisolasi menggunakan PCR dengan primer spesifik segmen DNA tersebut. Segmen DNA kemudian disisipkan ke dalam vektor. Salah satu jenis vektor yang umum digunakan adalah plasmid yang merupakan DNA ekstrakromosomal yang dapat bereplikasi sendiri secara independen dari replikasi kromosom. Untuk dapat menyisipkan segmen DNA pada vektor digunakan enzim ligase yang akan membentuk ikatan fosfodiester pada segmen DNA dan vektor. Vektor yang sudah diligasi dengan segmen DNA kemudian siap untuk ditransformasi kedalam sel inang. Salah satu sel inang yang banyak digunakan adalah bakteri terutama bakteri *Escherichia coli*.

SEL KOMPETEN

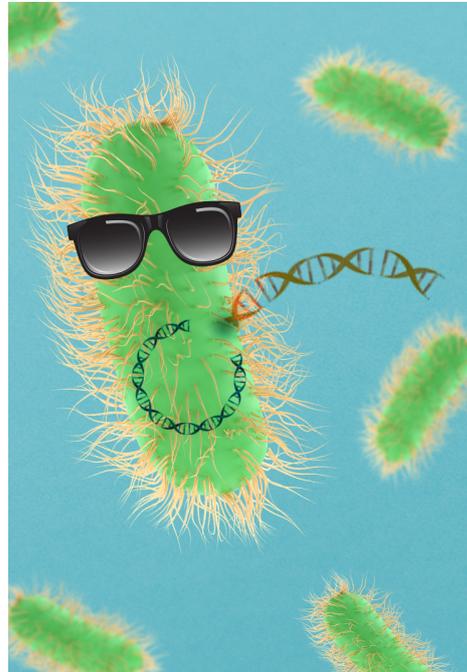
Sel kompeten adalah sel bakteri yang dapat menerima DNA asing. Beberapa sel bakteri dibuat menjadi kompeten di laboratorium. Bakteri seperti ini disebut dengan *artificial competent cell*. Terdapat dua macam sel kompeten buatan yakni sel kompeten kimiawi dan sel elektrokompeten. Jenis sel kompeten akan menentukan proses transformasi yang akan dilakukan. Terdapat 2 strain bakteri *E. coli* yang umum digunakan dalam kloning, yaitu DH5a dan BL21.





TRANSFORMASI

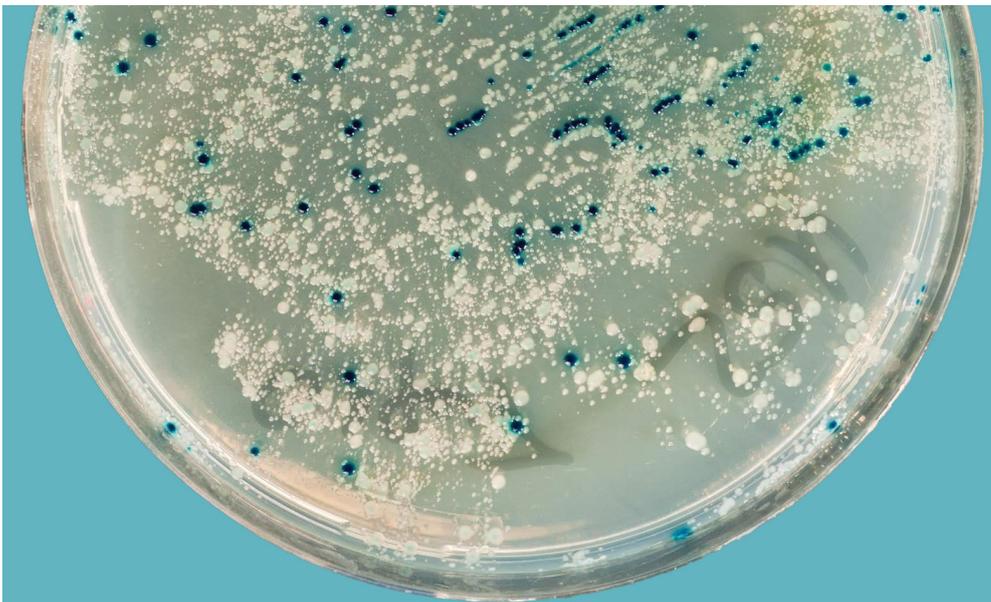
Tahapan selanjutnya adalah transformasi yaitu tahap untuk memasukan vektor ke dalam sel bakteri. Transformasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya secara kimiawi dengan heatshock atau dengan elektroporasi. Pada metode



heatshock, digunakan sel kompeten kimiawi yang diberi kejut panas. Sedangkan pada metode elektroporasi, digunakan sel elektrokompeten yang diberi kejut listrik. Kejut panas dan kejut listrik yang diberikan akan menyebabkan terbentuknya pori pada sel bakteri sehingga vektor dapat masuk kedalam. Bakteri transforman kemudian ditumbuhkan pada medium tumbuh dan diamati koloni yang terbentuk.

PENAPISAN KOLONI TRANSFORMAN

Tahap selanjutnya adalah seleksi atau *screening* dari koloni transforman. Tahap ini dilakukan untuk memastikan bahwa koloni yang tumbuh adalah benar koloni tranforman yang

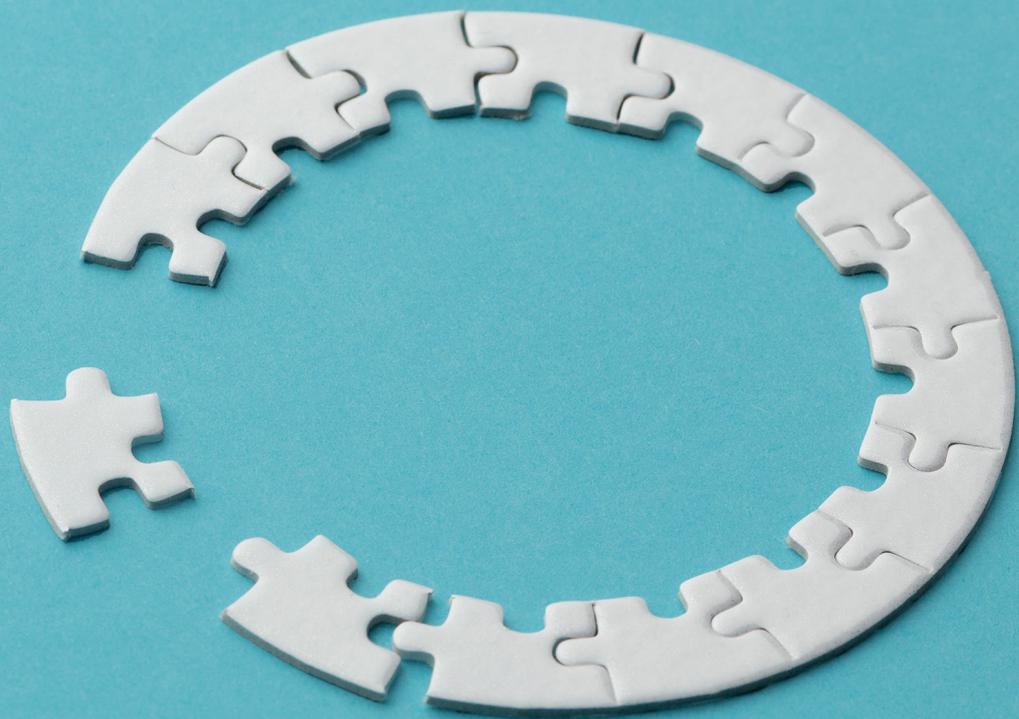


mengandung vektor yang disisipkan. Seleksi dan *screening* salah satunya dapat dilakukan dengan menggunakan gen resisten antibiotik. Gen - gen ini memberikan resistensi terhadap antibiotik tertentu, sehingga hanya bakteri yang mengandung vektor yang dapat tumbuh dalam kehadiran antibiotik tersebut (YP).

ONE-STOP SOLUTION DNA CLONING CATALOG

Genetika Science Indonesia menyediakan berbagai macam produk-produk yang mendukung dalam kegiatan kloning dengan kualitas tinggi, termasuk DNA ligase, vektor, sel kompeten, kit dan reagen yang disesuaikan untuk memenuhi setiap kegiatan kloning. Katalog yang kami tawarkan akan membuat kegiatan kloning secara mudah dan efisien.

We Help You Save Time and Money while Obtaining High-Quality DNA to Support Your Next Discovery.



Vector



Thermo Scientific
pBR322 Plasmid DNA

Catalog Number:
(SD0041)



Thermo Scientific
pUC18 Plasmid DNA

Catalog Number:
(SD0051)



Thermo Scientific
pUC19 Plasmid DNA

Catalog Number:
(SD0061)



Thermo Scientific
pTZ19R Plasmid DNA

Catalog Number:
(SD0141)



Thermo Scientific
pUC57 Plasmid DNA

Catalog Number:
(SD0171)

Competent Cells



Thermo Scientific
DH5α Competent Cells for Subcloning

Catalog Number:
(EC0111)



Thermo Scientific
DH5α Competent Cells

Catalog Number:
(EC0112)



Thermo Scientific
DH10B Competent Cells

Catalog Number:
(EC0113)



Thermo Scientific
BL21(DE3) Competent Cells

Catalog Number:
(EC0114)

Transformation Kits



Thermo Scientific
TransformAid Bacterial Transformation Kit

Catalog Number:
(K2711)



Zymo Research
Mix & Go! *E.coli* Transformation Kit

Catalog Number:
(T3001)



Zymo Research
Frozen-EZ Yeast Transformation II Kit

Catalog Number:
(T2001)

DNA Ligase



Thermo Scientific
T4 DNA ligase

Catalog Number:
(EL0011)



Thermo Scientific
Rapid DNA Ligation Kit

Catalog Number:
(K1422)



TOYOBO
Ligation High

Catalog Number:
(LK-101)

Plasmid Isolation Kits



Zymo Research
Zippy™ Plasmid Miniprep Kit

Catalog Number:
(D4019/D4020/D4036/D4037)



Zymo Research
ZymoPURE™ Plasmid Miniprep Kit

Catalog Number:
(D4212/D4211/D4210/D4208/
D4209)



Zymo Research
Zymoprep™ Yeast Plasmid Miniprep I

Catalog Number:
(D2001)



Zymo Research
Zymoprep™ Yeast Plasmid Miniprep II

Catalog Number:
(D2004)



Zymo Research
ZR BAC DNA Miniprep Kit

Catalog Number:
(D4048/D4049)



Meredian Bioline
ISOLATE II Plasmid Mini Kit

Catalog Number:
(BIO-52056)



Genaid
Presto™ Mini Plasmid Kit

Catalog Number:
(PDH100/PDH300)



Genaid
High-Speed Plasmid Mini Kit

Catalog Number:
(PDL100/PDL300)



Genaid
Presto™ Midi Plasmid Kit (Endotoxin Free)

Catalog Number:
(SD0171)

Cloning Kits & Others



Thermo Scientific
Fast DNA End Repair Kit

Catalog Number:
(K0771)



Thermo Scientific
CloneJET PCR Cloning Kit

Catalog Number:
(K1231)



TOYOBO
Target Clone

Catalog Number:
(TAK-101)



Thermo Scientific
IPTG, dioxane-free

Catalog Number:
(R0392)



TOYOBO
X-Gal

Catalog Number:
(R0402)



**SCAN BARCODE DISAMPING UNTUK
PERTANYAAN LEBIH LANJUT TERKAIT
PCR PRODUCT CLONING SERVICE**

SCAN HERE



PLASTIC EATING BACTERIA

INDONESIA MENGHASILKAN **SEKITAR 7,8 JUTA TON** SAMPAH PLASTIK SETIAP TAHUNNYA, DIMANA **4,9 JUTA TON** SAMPAH PLASTIK TERSEBUT **TIDAK DIKELOLA** DENGAN BAIK



Plastik merupakan jenis sampah yang membutuhkan waktu sangat lama untuk terdegradasi. Plastik dapat bertahan berada di permukaan bumi ini hingga ratusan dan ribuan tahun, bahkan mereka tidak pernah hilang sepenuhnya, hanya ukurannya yang semakin mengecil dan mengecil, berkontribusi terhadap polusi mikroplastik di lingkungan. Hal ini menyebabkan terjadinya penumpukan sampah plastik yang mencemari lingkungan dan juga berdampak pada kesehatan manusia. Penumpukan sampah plastik ini menjadi permasalahan yang sangat genting yang perlu untuk segera diselesaikan.

Pada tahun 2016, sekelompok peneliti dari *Kyoto Institute of Technology* yang diketuai oleh Kohei Oda berhasil menemukan bakteri yang dapat mendegradasi plastik PET (*polietilen tereftalat*) yang diambil dari fasilitas daur ulang botol plastik

di Sakai, Jepang. Bakteri tersebut adalah *Ideonella sakaiensis*, bakteri yang menggunakan PET sebagai sumber energi dan juga sumber karbonnya. *I. sakaiensis* dapat menempel pada permukaan plastik PET dan menghasilkan enzim PETase, yang akan mendegradasi PET menjadi MHET (asam mono (2-hidroksietil) tereftalat) dan juga menghasilkan enzim MHETase yang akan mendegradasi MHET menjadi etilen glikol dan asam tereftalat. Kedua monomer tersebut kemudian digunakan oleh *I. sakaiensis* dan bakteri lainnya sebagai sumber energi dan karbon. Kedua monomer tersebut juga dapat dipurifikasi dan digunakan untuk didaur ulang menjadi plastik PET baru.

Penemuan ini menjadi titik harapan untuk memecahkan permasalahan sampah plastik di dunia, yaitu dengan memanfaatkan bakteri *I. sakaiensis* dalam biodegradasi PET sebagai metode daur ulang dan bioremediasi (YP).



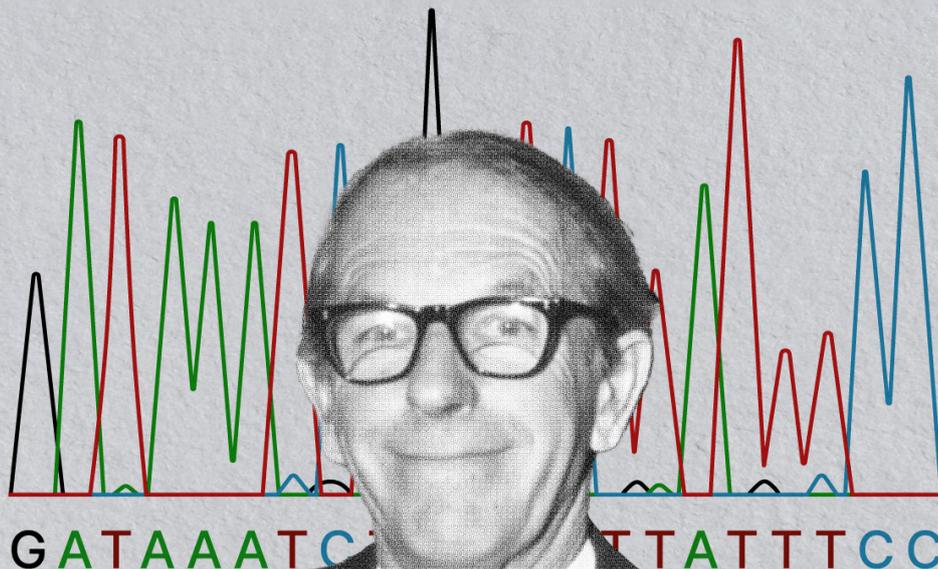
Discover DNA's Story

Sanger Sequencing

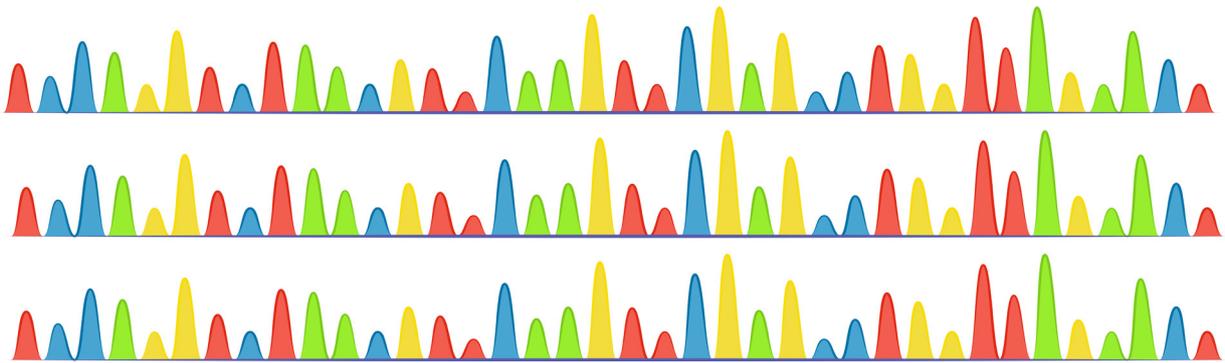
Frederick Sanger adalah salah satu ilmuwan terkemuka dalam bidang biokimia dan biologi molekuler abad ke-20. Namanya diabadikan dalam sejarah ilmu pengetahuan melalui kontribusinya yang monumental dalam pengembangan metode sekuensing DNA.

Frederick Sanger lahir pada tanggal 13 Agustus 1918, di Rendcomb, Gloucestershire, Inggris. Pada masa remajanya, minatnya dalam ilmu alam mendorongnya untuk memperoleh gelar sarjana di bidang kimia di Universitas Cambridge pada tahun 1939. Namun, studinya terputus oleh Perang Dunia II. Setelah perang berakhir, Sanger kembali ke Cambridge dan memulai penelitiannya di Laboratorium Molekuler Biokimia, yang dipimpin oleh Sir Frederick Gowland Hopkins, pemenang Nobel Kimia tahun 1929. Di sana, Sanger mulai mengembangkan teknik sekuensing protein, yang pada gilirannya membantu memahami struktur asam amino dalam protein. Pencapaiannya yang paling monumental adalah pengembangan metode sekuensing DNA pada tahun 1977. Metode ini dikenal sebagai metode "Sanger sequencing" atau "*dideoxy sequencing*". Teknik ini merevolusi pemahaman kita tentang genom manusia dan organisme lainnya. Metode ini menjadi dasar bagi sebagian besar teknologi

sekuensing DNA yang digunakan saat ini. Prestasi Sanger dalam bidang sekuensing DNA membuatnya meraih dua Penghargaan Nobel dalam Kimia. Yang pertama diterimanya pada tahun 1958 bersama dengan kimiawan lain atas penelitiannya dalam struktur insulin, sedangkan yang kedua ia terima pada tahun 1980, berbagi dengan Paul Berg dan Walter Gilbert atas kontribusinya dalam pengembangan metode sekuensing DNA. Frederick Sanger meninggal pada 19 November 2013 di usia 95 tahun. Namun, warisannya tetap hidup dalam penelitian-penelitian yang terus dilakukan oleh para ilmuwan di seluruh dunia. Warisan Sanger tidak hanya terbatas pada kontribusinya dalam ilmu pengetahuan. Metodenya memungkinkan pengembangan teknologi sekuensing DNA yang lebih lanjut, termasuk metode sekuensing generasi berikutnya yang digunakan dalam penelitian genetika modern (ODP).



Peran Sanger Sequencing dalam DNA Barcoding



Proses Sanger sequencing dimulai dengan penggandaan fragmen DNA target menggunakan reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Setelah amplifikasi DNA, fragmen tersebut disekuensing menggunakan teknik kimia yang memungkinkan penentuan urutan nukleotida. Pada tahap sekuensing, fragmen DNA diambil sebagai cetakan untuk sintesis rantai DNA baru. Dalam reaksi sekuensing, ddNTPs (*dideoxy nucleotides*) digunakan bersama dengan dNTPs (*deoxy nucleotides*) dan DNA polimerase. Ketika ddNTPs dimasukkan ke dalam rantai DNA yang sedang tumbuh, proses sintesis terhenti karena ddNTPs tidak memiliki gugus hidroksil pada posisi 3', sehingga

menghentikan pembentukan ikatan fosfodiester yang berperan dalam sintesis nukleotida. Hasilnya, fragmen DNA yang dihasilkan memiliki panjang yang bervariasi, masing-masing diakhiri dengan ddNTP yang mewakili nukleotida terakhir dalam rantai. Selanjutnya, fragmen DNA yang telah disekuensing dipisahkan berdasarkan ukurannya melalui elektroforesis kapiler. Selama elektroforesis, fragmen DNA bergerak melalui sebuah gel kapiler yang memisahkan fragmen berdasarkan ukurannya. Pada saat yang bersamaan, detektor fluoresensi merekam sinyal dari setiap fragmen, memungkinkan untuk menentukan urutan nukleotida berdasarkan fluoresensi yang diamati. Data hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak khusus untuk mengurai urutan nukleotida dalam fragmen DNA. Puncak-puncak fluoresen dalam gambar elektroforesis kapiler mewakili nukleotida yang berbeda dalam urutan DNA (NI).

Sanger Sequencing

Telah Menjadi Metode

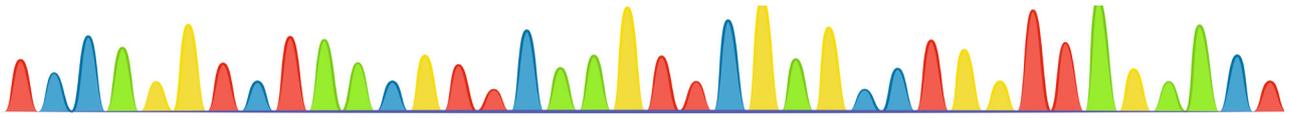
Utama dalam Sekuensing

DNA Selama Beberapa

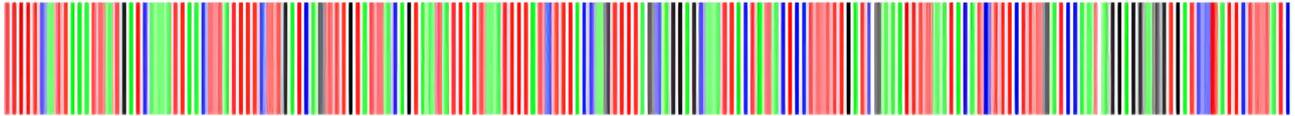
Dekade dan Masih

Banyak Digunakan dalam

Berbagai Aplikasi



Sanger Sequencing Memainkan Peran Sentral dalam *DNA Barcoding*



Meskipun telah berkembang teknologi sekuensing yang lebih canggih, seperti *Next Generation Sequencing*, *Sanger Sequencing* tetap menjadi pilihan yang berguna dalam banyak situasi, terutama untuk sekuensing fragmen DNA dengan ukuran kurang dari 1000 bp atau dalam studi yang membutuhkan keakuratan tinggi. *Sanger Sequencing* adalah salah satu teknik utama yang digunakan dalam analisis *DNA barcoding*. Setelah DNA dari fungi dan bakteri yang

mengurai urutan nukleotida dalam fragmen DNA. Puncak fluoresen dalam gambar elektroforesis kapiler memberikan informasi tentang urutan nukleotida. Data sekuensing ini kemudian dibandingkan dengan basis data referensi yang mengandung urutan genetik dari spesies-spesies yang telah diketahui. Melalui perbandingan ini, spesies organisme yang bersangkutan dapat diidentifikasi secara akurat. Dengan demikian, *Sanger Sequencing* memainkan

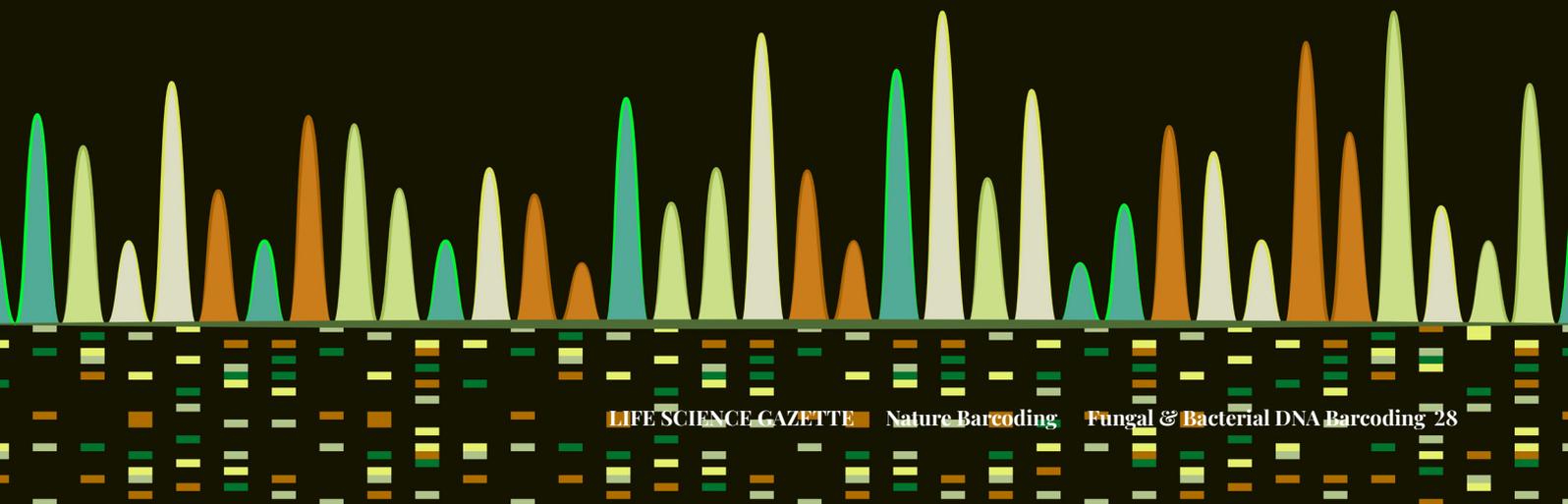


ingin diidentifikasi telah berhasil diisolasi, DNA tersebut kemudian diamplifikasi melalui reaksi PCR. Setelah amplifikasi, fragmen DNA dipisahkan berdasarkan ukuran menggunakan elektroforesis gel, menciptakan pola unik dari berbagai fragmen yang akan dianalisis. Selanjutnya, fragmen DNA yang telah dipisahkan disekuensing menggunakan metode *Sanger Sequencing*. Setelah proses sekuensing selesai, data yang dihasilkan dianalisis untuk

peran sentral dalam *DNA barcoding* dengan memberikan informasi genetik yang diperlukan untuk membedakan spesies secara unik. Kombinasi antara penggunaan gen target yang tepat, amplifikasi DNA, *Sanger Sequencing*, dan analisis data menjadi landasan penting untuk identifikasi spesies fungi dan bakteri dalam berbagai bidang penelitian (NI).

Genetika Science Indonesia Menawarkan

Sanger Sequencing Service & Learning Program





Self-healing
Microbial pada
Retakan Beton

Bakteri yang Mampu Menjaga Struktur Beton Hingga 200 Tahun

Retak merupakan salah satu penyebab utama kerusakan beton, yang memungkinkan masuknya bahan-bahan kimia dan dapat mengakibatkan hilangnya sifat fisik-mekanik dan ketahanan struktur beton. Metode perbaikan retak secara konvensional dapat dilakukan dengan menggunakan bahan perbaikan sintetis seperti resin dan epoksi. Namun, perbaikan dengan bahan sintetis tidak mampu memperbaiki kerusakan internal atau retakan mikro. Selain itu, limbah konstruksi, yang merupakan 59% dari total sampah dunia turut meninggalkan jejak karbon. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan alternatif berkelanjutan seperti metode pengendapan kalsit melalui mikroba ke beton sebelum retakan muncul sehingga dapat menghemat sumber daya dan menjaga kelestarian alam.

Self-healing pada retakan beton berbasis mikroba mengurangi biaya pemeliharaan dan memperpanjang masa pakai struktur beton. Teknik *self-healing* berbasis mikroba ini juga telah menunjukkan hasil yang paling menjanjikan karena efektivitasnya yang berkelanjutan. Efisiensi berkelanjutan ini disebabkan oleh kemampuan mikroba untuk mencapai *self-healing* pada retakan yang berkepanjangan dengan mengubah sel vegetatif mikroba menjadi spora, sehingga memperpanjang kelangsungan hidup mikroba dalam beton selama lebih dari 200 tahun. Mikroba pada retakan akan aktif dari keadaan dorman pada saat air masuk ke dalam retakan dan selanjutnya mulai berkembang biak dan mengendapkan mineral seperti kalsit (CaCO_3), yang pada akhirnya menyembuhkan retakan. Setelah retakan diperbaiki secara otonom, mikroba memasuki tahap hibernasi. Jika retakan terbentuk di kemudian hari, mikroba akan aktif kembali dan mengisi retakan tersebut. Dengan demikian, mikroba bertindak sebagai agen *self-healing* yang bertahan lama dan mekanisme ini biasa disebut

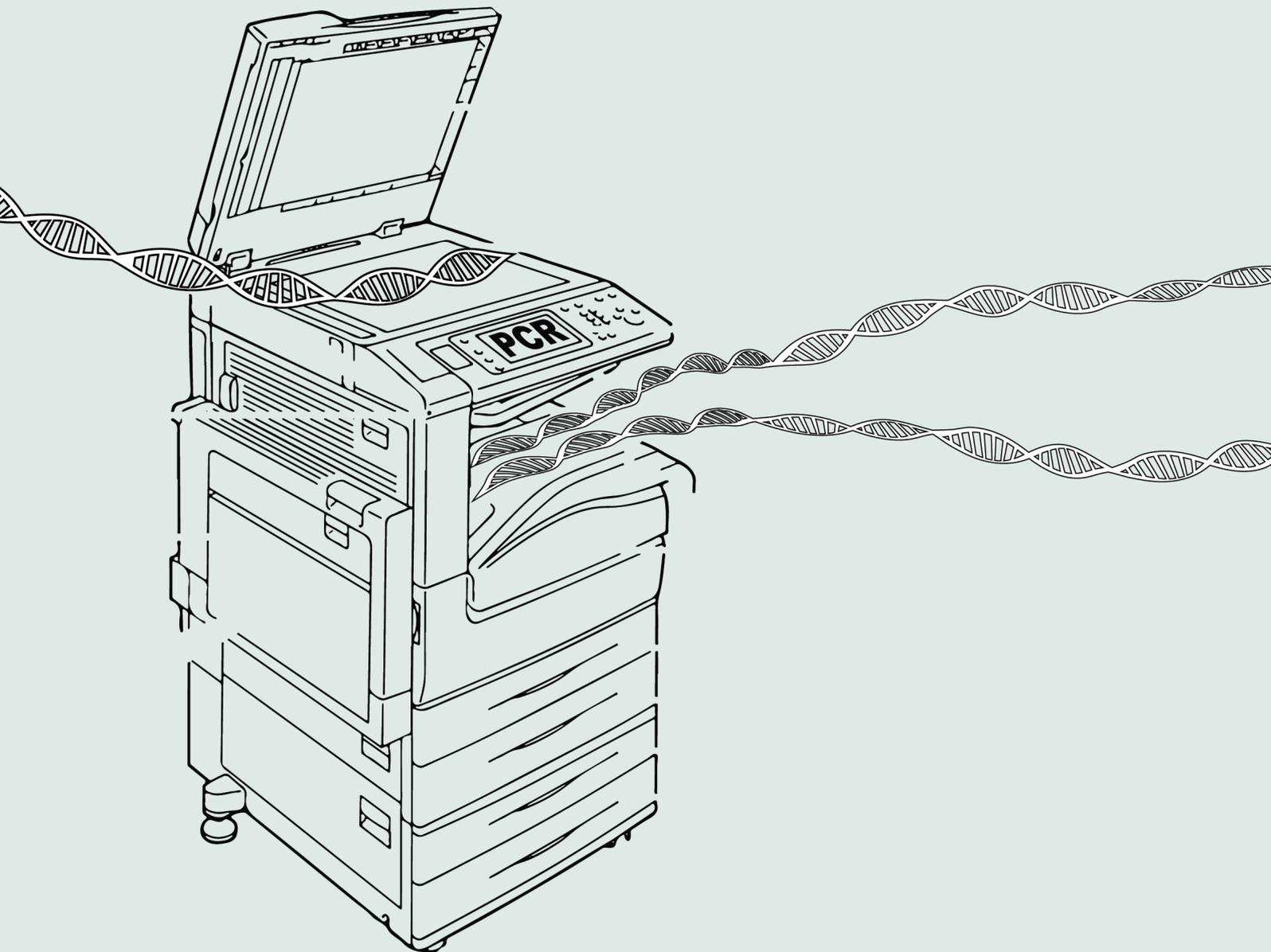
sebagai presipitasi kalsium karbonat yang diinduksi mikroba atau *Microbially Induced Calcium Precipitate* (MICP). Hasilnya, perembesan bahan kimia agresif, kelembapan, dan faktor lingkungan lainnya ke dalam beton berkurang secara signifikan. Penelitian yang dilakukan oleh Ramkrishna *et al.*, menyimpulkan bahwa mikroba *S. pasteurii* pada beton dapat menginduksi pengendapan kalsium karbonat melalui degradasi asam urat atau urea, yang memfasilitasi self healing pada retakan beton. Sejak itu, penelitian ekstensif oleh beragam peneliti telah meneliti berbagai aspek pada sifat beton mikroba yang segar dan mengeras. Berdasarkan data yang ada, penggabungan berbagai strain mikroba antara lain *Bacillus aerius*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus acetophenoni*, *Bacillus odysseyi*, dan *Sporosarcina pasteurii* dapat memperkuat struktur beton dibandingkan dengan beton konvensional tanpa pemberian mikroba dalam kurun waktu 28 hari. Oleh karena itu, dalam beberapa tahun terakhir teknologi beton *self-healing* berbasis mikroba menarik banyak penelitian (NI).



Gambaran Self-Healing Microbial pada Beton

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Penggandaan DNA dalam *Barcoding*



PCR (Polymerase Chain Reaction)

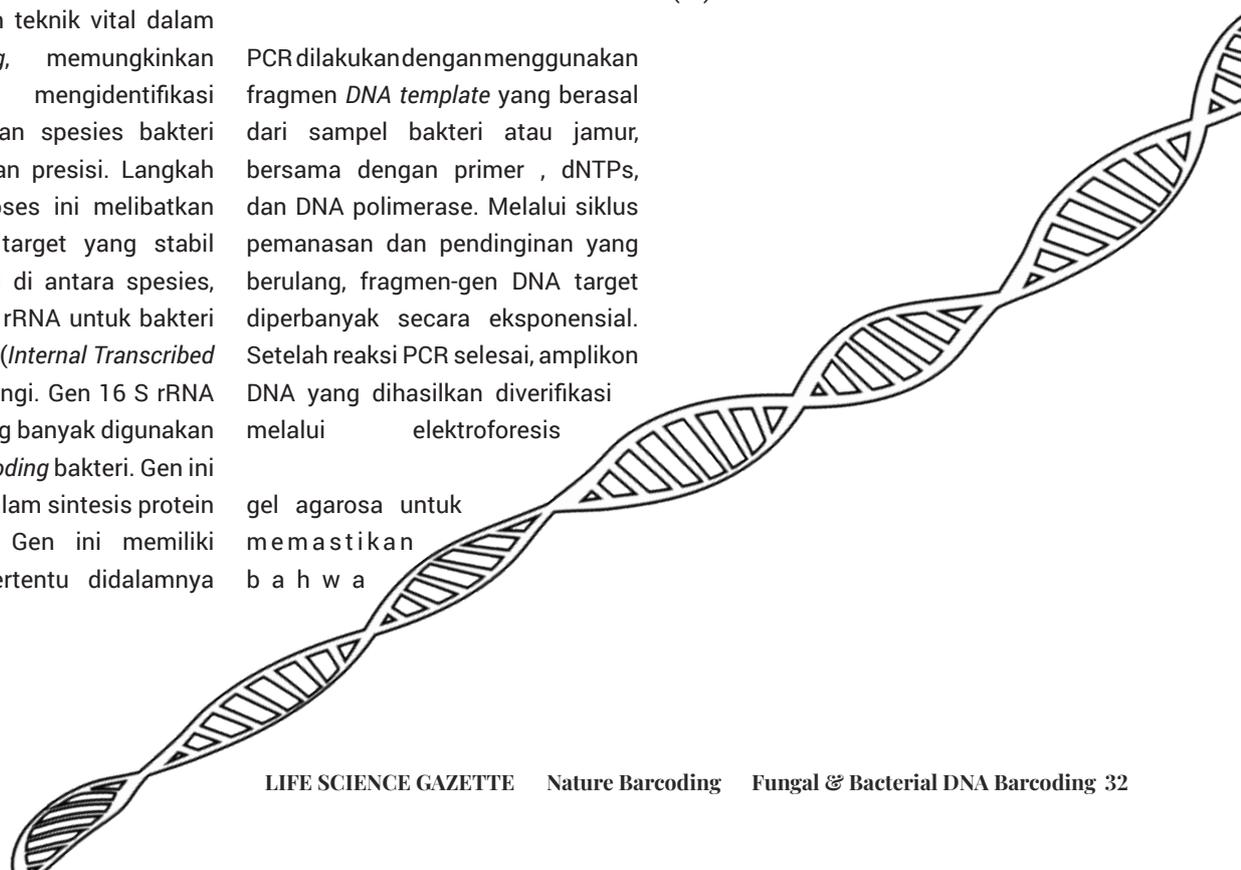
merupakan teknik biologi molekuler yang digunakan untuk mengamplifikasi sekuens DNA tertentu secara selektif. Teknik ini dikembangkan pada tahun 1983 oleh Kary Mullis, dan sejak itu menjadi salah satu alat paling penting dalam berbagai bidang keilmuan. Dalam *DNA barcoding* bakteri dan jamur, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menjadi langkah kunci dalam mempersiapkan sampel DNA untuk analisis sekuensing. Proses dimulai dengan pemilihan gen target yang paling sesuai, biasanya gen yang mengkodekan untuk sekuens ribosomal RNA (rRNA) seperti 16S rRNA untuk bakteri dan gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) untuk jamur. Primer PCR kemudian dirancang untuk menargetkan daerah konservatif dari gen-gen ini, memungkinkan amplifikasi fragmen DNA yang berukuran cukup untuk memberikan informasi yang memadai untuk identifikasi spesies. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah teknik vital dalam *DNA barcoding*, memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi dan membedakan spesies bakteri dan fungi dengan presisi. Langkah awal dalam proses ini melibatkan pemilihan gen target yang stabil tetapi bervariasi di antara spesies, seperti gen 16S rRNA untuk bakteri dan wilayah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) untuk fungi. Gen 16 S rRNA menjadi gen yang banyak digunakan dalam *DNA Barcoding* bakteri. Gen ini berperan vital dalam sintesis protein dalam bakteri. Gen ini memiliki region-region tertentu didalamnya

dan memiliki variasi yang cukup tinggi antara spesies mikrobial, yang membuat gen ini menjadi target yang ideal untuk analisis keragaman mikrobial karena memungkinkan untuk dilakukan pemisahan dan identifikasi species bahkan dalam kelompok yang sangat mirip secara morfologi maupun secara filogenetik. Sedangkan pada DNA Barcoding fungi, gen yang kerap digunakan adalah gen ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Seperti gen 16S, gen ITS juga memiliki variabilitas yang tinggi antar spesies, sekaligus memiliki bagian gen yang *conserved* dalam spesies yang sama. Variabilitas ini juga mampu membedakan yang serupa secara morfologi atau filogenetik. Daerah ITS terletak di antara gen-gen RNA ribosomal (rRNA) yang konservatif, yaitu 18S, 5.8S, dan 28S rRNA. Spesifiknya, ITS terdiri dari dua daerah spacer, yaitu ITS1 dan ITS2, yang dipisahkan oleh gen 5.8S rRNA. Selain untuk identifikasi spesies, analisis filogenetik dari gen ITS dan gen 16S dapat memberikan wawasan tentang hubungan *evolusioner* antara berbagai spesies.

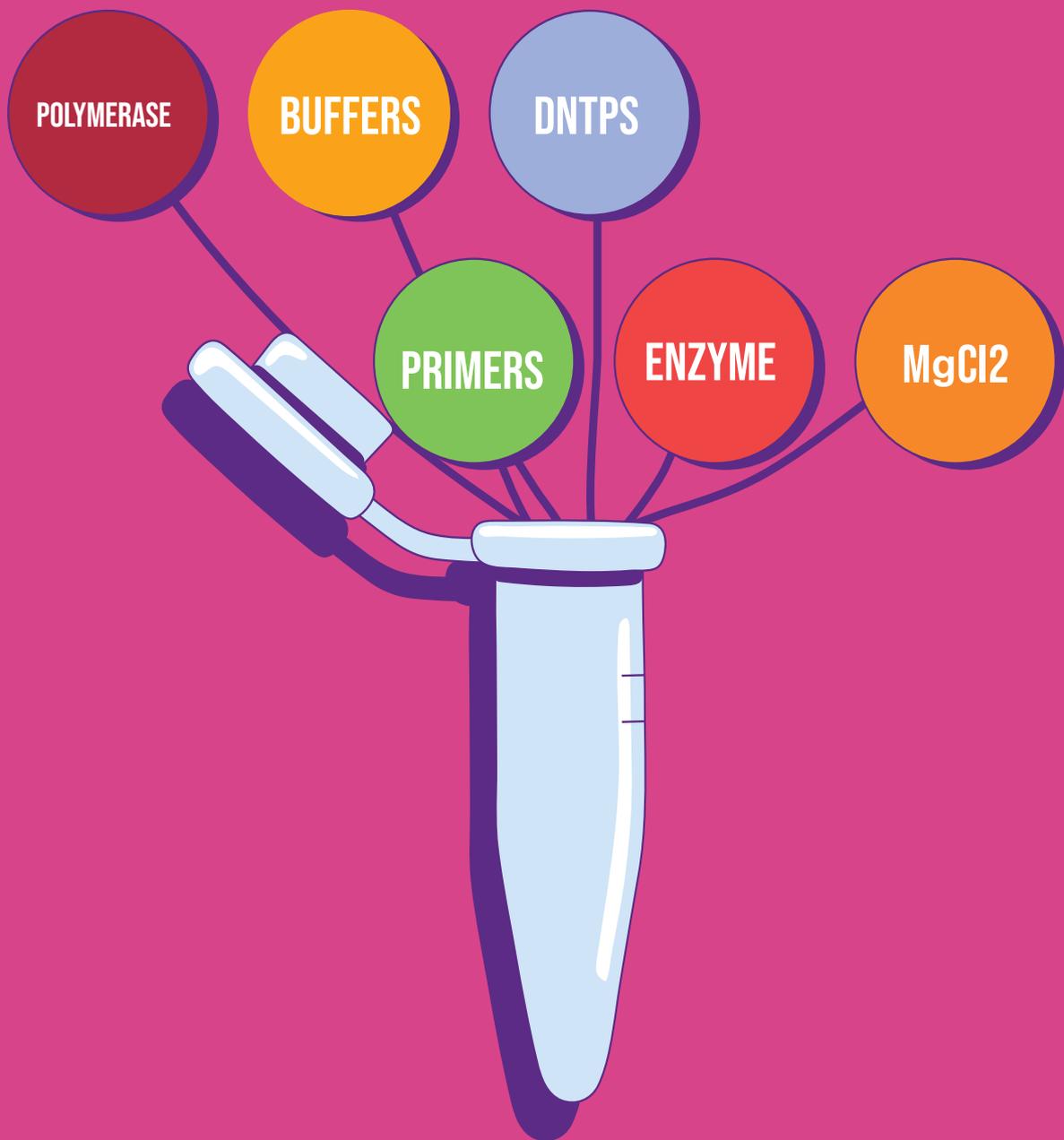
PCR dilakukan dengan menggunakan fragmen *DNA template* yang berasal dari sampel bakteri atau jamur, bersama dengan primer, dNTPs, dan DNA polimerase. Melalui siklus pemanasan dan pendinginan yang berulang, fragmen-gen DNA target diperbanyak secara eksponensial. Setelah reaksi PCR selesai, amplicon DNA yang dihasilkan diverifikasi melalui elektroforesis

gel agarosa untuk memastikan bahwa

amplicon memiliki panjang yang diharapkan dan tidak terkontaminasi. Selanjutnya, produk PCR dibersihkan dari primer, dNTPs, enzim, dan produk samping lainnya sebelum dilakukan sekuensing. Langkah pembersihan ini penting untuk memastikan hasil sekuensing yang akurat. Setelah itu, fragmen DNA yang telah dibersihkan siap untuk dianalisis dengan menggunakan metode sekuensing seperti *Sanger sequencing* atau sekuensing WW berbasis NGS (*Next-Generation Sequencing*). Data sekuensing kemudian dianalisis untuk mengidentifikasi spesies bakteri atau jamur yang bersangkutan berdasarkan kesesuaian dengan basis data referensi yang mengandung sekuens-sekuens DNA yang telah diketahui. Dengan demikian, PCR menjadi langkah awal penting dalam *DNA barcoding* bakteri dan jamur, memungkinkan untuk amplifikasi fragmen DNA target yang diperlukan untuk analisis sekuensing dan identifikasi spesies dengan akurat (NI).



PCR MASTER MIX CATALOG



ELEVATE YOUR PCR RESULTS



Thermo Scientific DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)

Higher Sensitivity, Longer PCR Products and Higher Yields.

Variant	Code
200 reactions	K1081
1000 reactions	K1082



TOYOBO KOD FX Neo

High Efficient & Success Rate DNA Polymerase.

Variant	Code
KOD FX Neo , 200U	KFX-201



Meridian Bioscience MyTaq HS Red Mix

Mastermix Containing a New Generation of Hot-Start Polymerase.

Variant	Code
200 x 50µl L rxs	BIO-25047
1000 x 50 µL rxs	BIO-25048



Thermo Scientific Phusion™ Plus PCR Master Mix

Convenient & Ready-to-Use 2X Mixture.

Variant	Code
100 x 50 µL rxs	F631S
500 x 50 µL rxs	F631L
2000 x 50 µL rxs	F631XL



Thermo Scientific Phire Plant Direct PCR Master Mix

Amplify DNA Directly from Plant Samples.

Variant	Code
250 reactions	F160S
1,250 reactions	F160L



Visualisasi Akurat Setiap Pita DNA

Reagen Elektroforesis



1st BASE
Agarose (100g, 500g, & 1Kg)

Catalog Number:
(BIO-1000-100g/ BIO-1000-500g/ BIO-1000-1kg)



1st BASE
Tris-Acetate-EDTA (TAE) Buffer

Catalog Number:
(BUF-3010-10X1L/ BUF-3010-10X4L)



1st BASE
Tris-Borate-EDTA (TBE) Buffer

Catalog Number:
(BUF-3010-10X1L/ BUF-3010-10X4L)



Thermo Scientific
GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder (loading dye included)

Catalog Number:
(SM1333/ SM1334)



Thermo Scientific
GeneRuler DNA Ladder Mix

Catalog Number:
(SM0333/ SM0334)



Thermo Scientific
DNA Gel Loading Dye (6X) (1 mL)

Catalog Number:
(R0611)



1st BASE
Florosafe DNA Stain (1mL)

Catalog Number:
(BIO-5170-1ml)

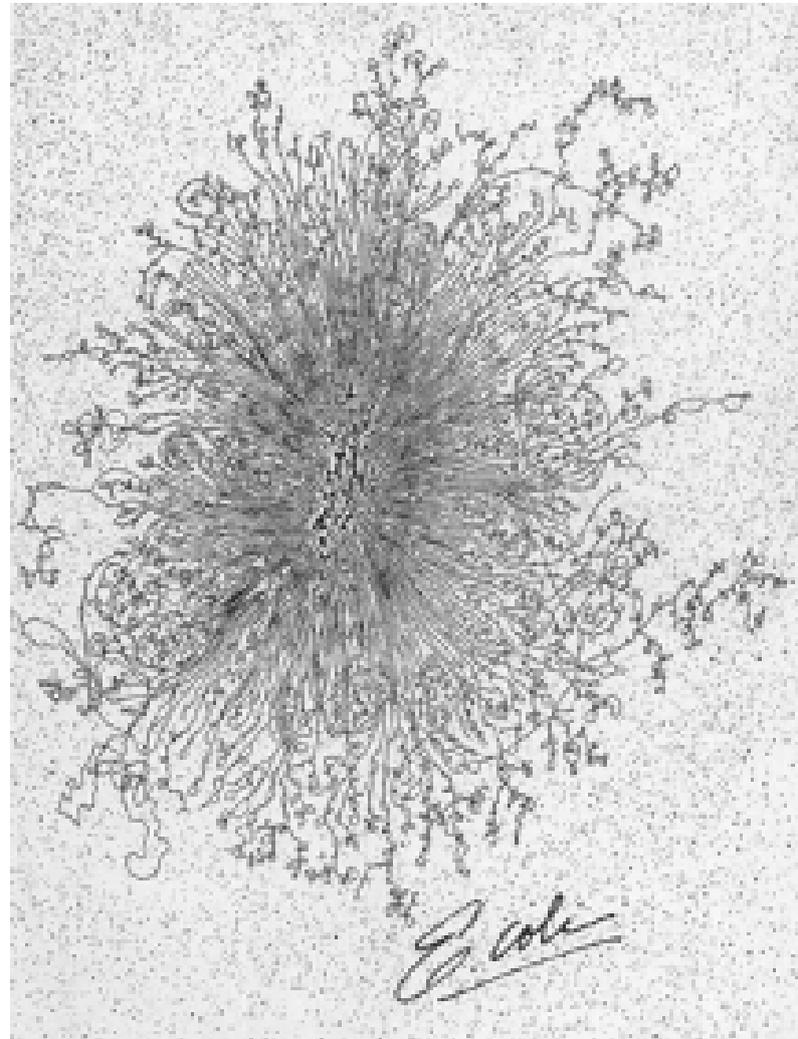
MARKA GENETIK

A Pinpoint of Spesies and Organism

Marka genetik adalah suatu sekuens DNA sepanjang kurang dari seribu pasangan basa yang dapat dipergunakan sebagai marka dalam identifikasi spesies dari suatu organisme. Sekuens DNA yang dipergunakan biasanya berupa suatu sekuens gen yang juga umum dimiliki oleh spesies – spesies lainnya. Adapun marka genetik ini menggunakan sekuens gen yang terdapat pada kromosom, mitokondria, ataupun kloroplas sesuai dengan kelompok filogenetik dari organisme yang akan diidentifikasi. Pada kelompok tumbuhan, marka genetik pada sekuens DNA kloroplas yang umum dipergunakan, sedangkan pada kelompok hewan, marka genetik yang umum dipergunakan adalah berasal dari sekuens DNA mitokondria. Selain itu, sekuens gen pada kromosom sering kali digunakan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri dan kelompok fungi. **Berikut adalah gen – gen yang telah umum dijadikan sebagai marka genetik:**

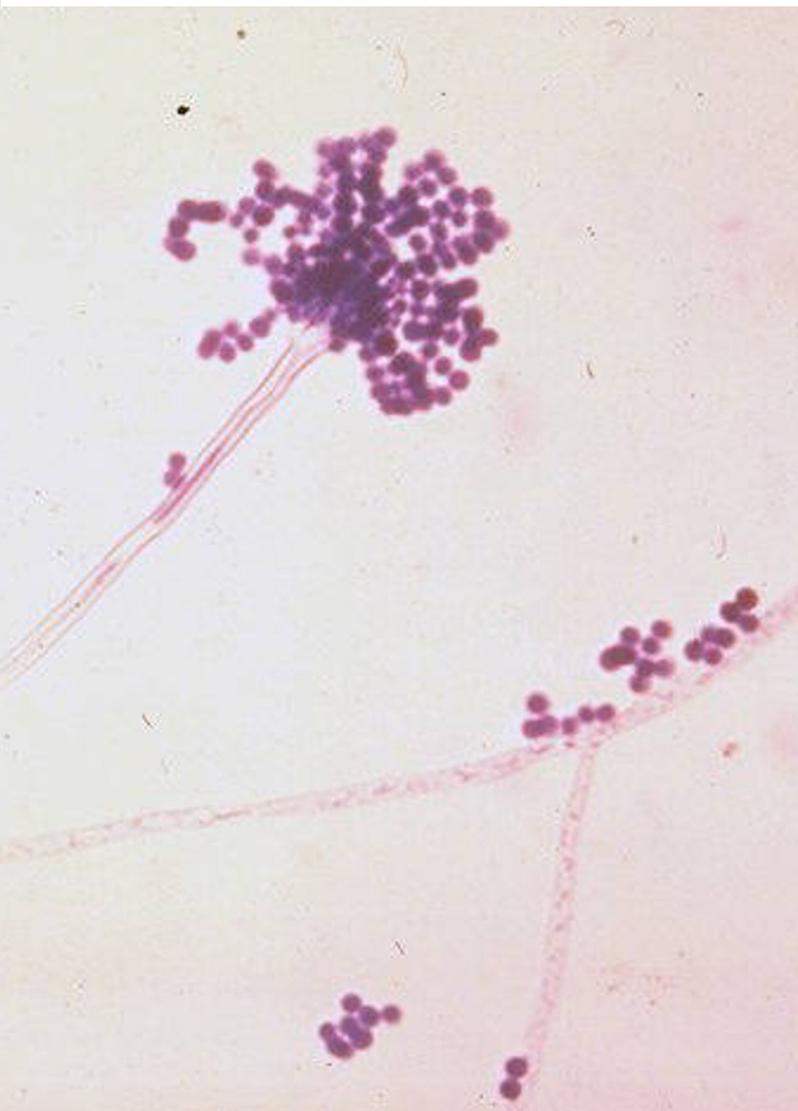
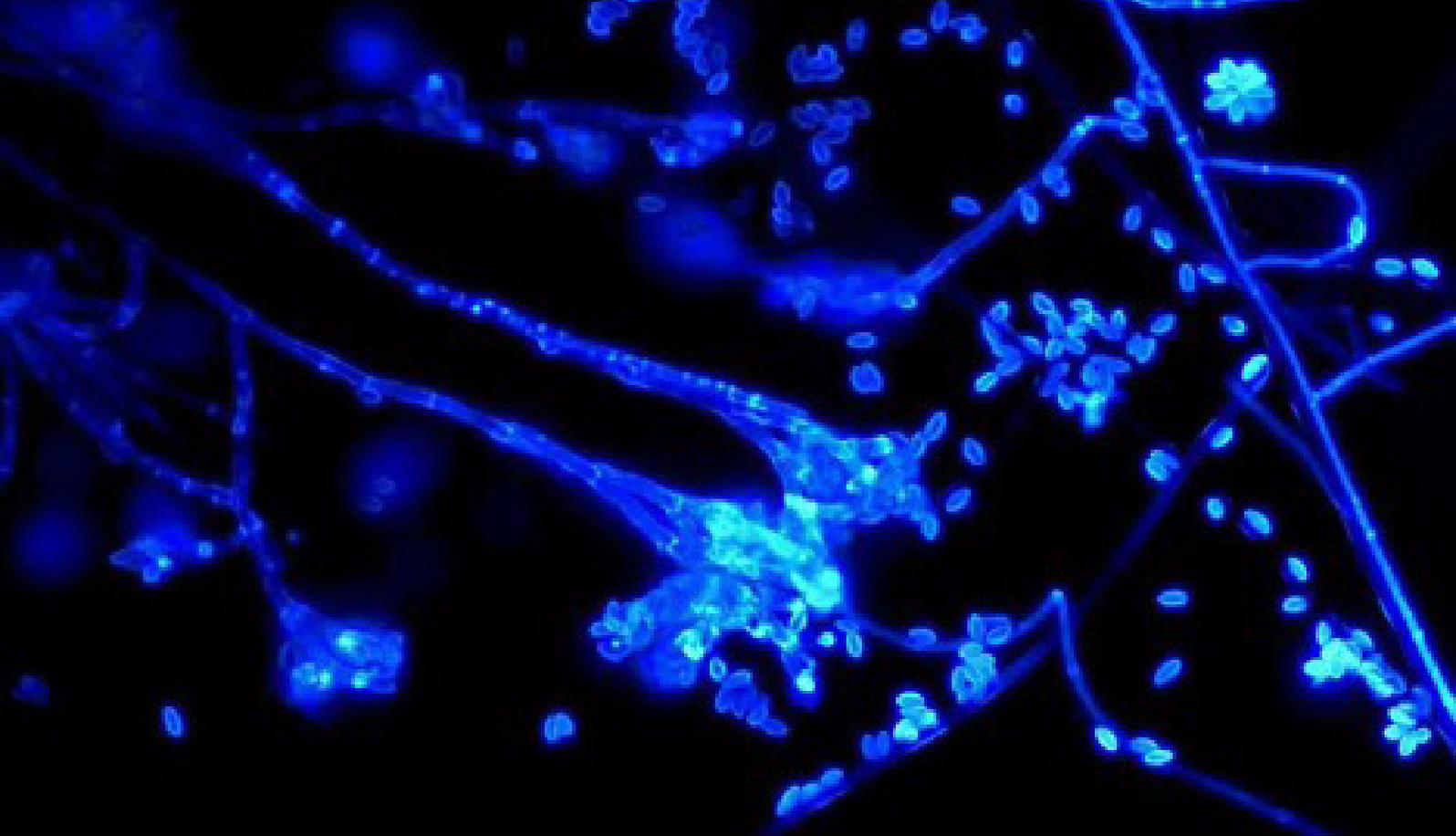
Gen 16S RNA Ribosomal

Gen 16S RNA ribosomal adalah gen yang menyandi sekuens RNA yang berperan dalam pembentukan subunit kecil dari molekul ribosom, suatu molekul yang berperan penting dalam proses translasi protein dari mRNA. Gen ini terdapat pada kromosom dan dimiliki oleh seluruh kelompok bakteri sehingga dapat dipergunakan dalam proses identifikasi bakteri secara umum. Saat ini terdapat berbagai macam primer yang telah didesain untuk menargetkan gen 16S rRNA ini sesuai dengan spesifisitas identifikasi spesies bakteri yang ingin dicapai, dimana primer dapat menargetkan gen 16S rRNA pada kelompok filum bakteri tertentu saja hingga suatu kelompok genus tertentu saja.



Gen gyrB

Gen gyrB adalah gen yang menyandi enzim DNA girase subunit B, suatu subunit dari enzim topoisomerase tipe 2 yang dapat mengurai struktur superkoil kromosom bakteri menjadi struktur terbuka. Gen ini memiliki laju mutasi yang lebih tinggi dibandingkan gen 16S sehingga dapat digunakan sebagai marka genetik bakteri alternatif, terutama untuk mengidentifikasi spesies-spesies bakteri yang berkerabat dekat. Gen ini telah digunakan untuk membedakan spesies bakteri dari beberapa genera, seperti *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Myxococcus*, *Corallocooccus*, dan *Pyxidicoccus* dengan hasil pengidentifikasian yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan gen 16S.



26S RNA Ribosomal

Gen 26S RNA ribosomal adalah gen yang menjadi sekuens RNA yang berperan dalam pembentukan sub unit besar dari molekul ribosom. Adapun sekuens yang dipergunakan adalah bagian domain D1 dan D2 yang berada pada posisi 5' sekuens RNA, yang biasanya dipergunakan untuk mengidentifikasi kelompok kapang dan khamir.

Gen ITS

Sekuens ITS adalah sekuens intergenetik yang berada diantara sekuens RNA subunit besar dan kecil dari molekul ribosom. Terdapat 2 sekuens ITS yang dapat dipergunakan yaitu sekuens ITS1 yang berada di antara gen rRNA 18S dan 5,8S dan ITS2 yang berada di antara gen rRNA 5,8S dan 28S. Marka ini biasa dipergunakan untuk mengidentifikasi kelompok fungi.

Gen TEF-1 α

Gen TEF-1 α adalah gen yang menyandi protein faktor elongasi translasi subunit 1 alfa, yang berperan dalam proses elongasi rantai polipeptida selama proses translasi protein berlangsung. Gen ini umum digunakan sebagai marka genetik sekunder dalam identifikasi kelompok fungi. Adapun gen ini memiliki laju mutasi yang lambat sehingga baik untuk dipergunakan untuk mendiskriminasi percabangan secara filogenetik yang lebih lampau.

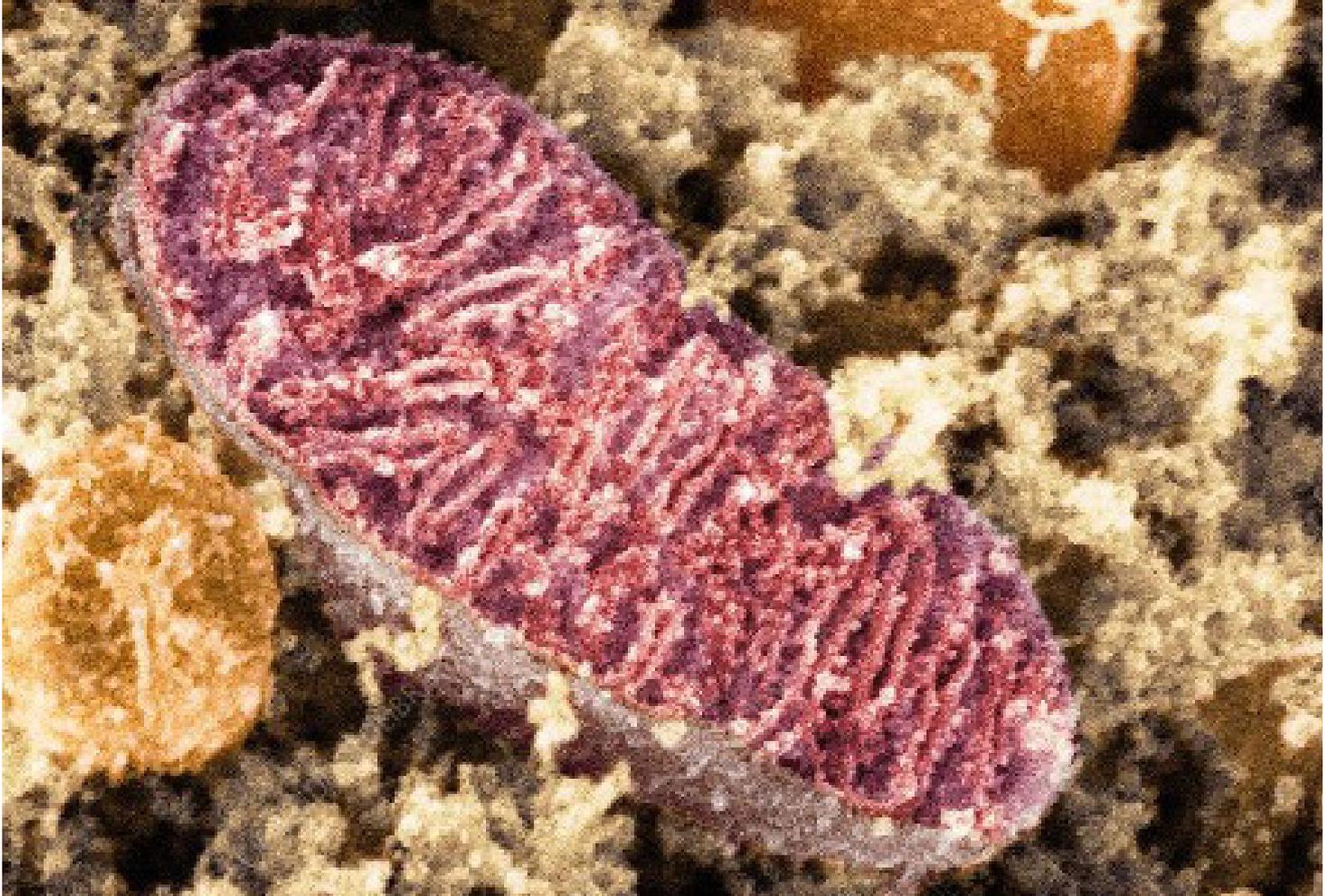
Gene Marker dapat dipergunakan sebagai marka dalam identifikasi spesies dari suatu organisme

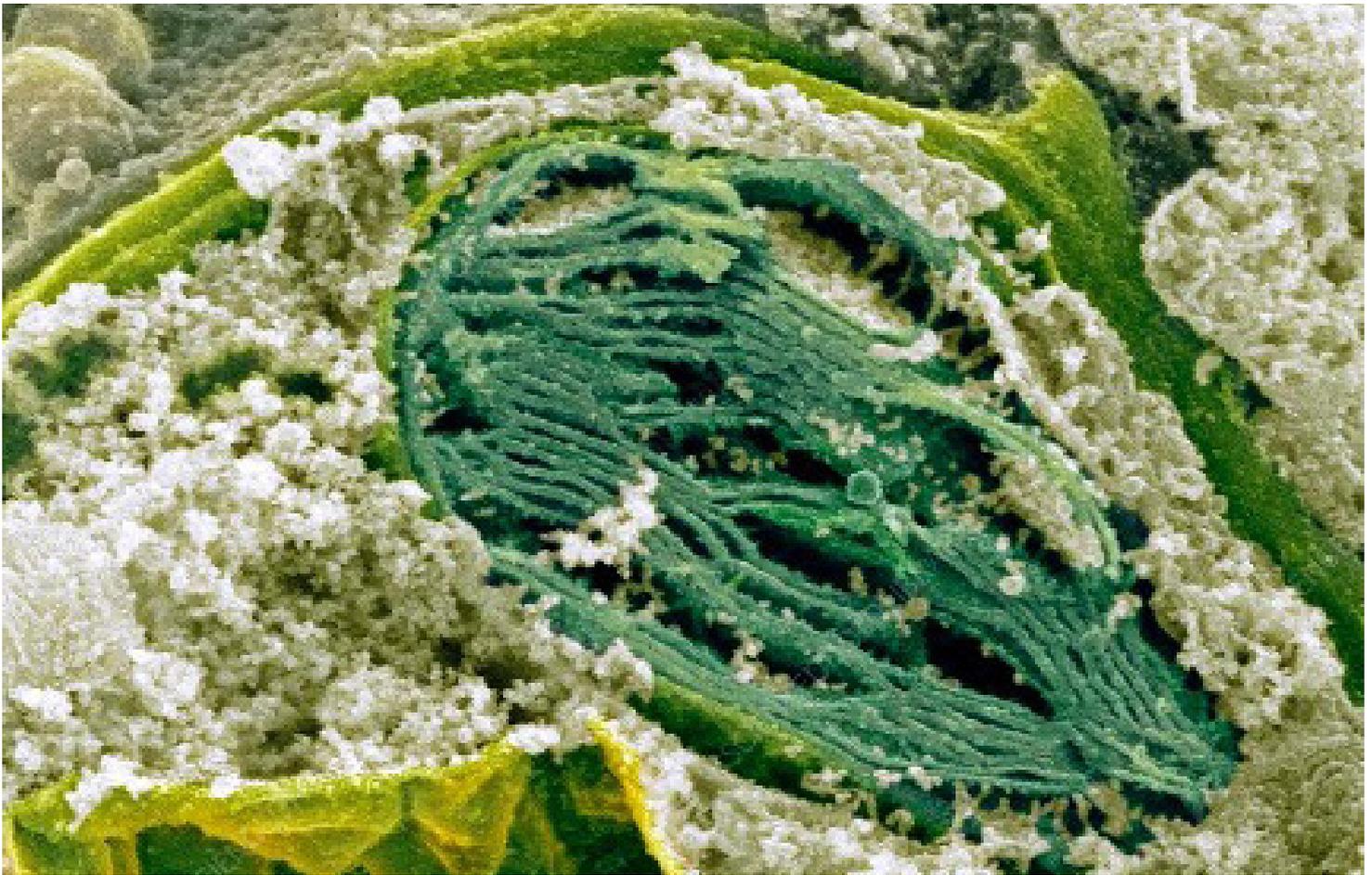
Gen COI / COX1

Gen COI (dikenal juga sebagai gen COX1) adalah gen penyandi protein sitokrom C oksidase subunit I, suatu enzim yang berperan dalam siklus transportasi elektron pada proses respirasi sel. Gen ini dapat ditemukan pada mitokondria dan gen ini umum digunakan untuk mengidentifikasi kelompok hewan. Beberapa pasang primer gen COI yang telah dikembangkan untuk menargetkan kelompok hewan tertentu, seperti kelompok ikan, kelompok cacing, kelompok burung, dan lain sebagainya.

Gen *cytB*

Gen *cytB* adalah gen penyandi protein sitokrom B, salah satu enzim yang juga berperan dalam siklus transportasi elektron pada proses respirasi sel. Seperti dengan halnya gen COI, gen ini juga dapat ditemukan pada sekuens DNA mitokondria dan juga umum digunakan untuk mengidentifikasi kelompok hewan. Dalam beberapa kasus, gen *cytB* dapat digunakan bersamaan dengan gen COI untuk meningkatkan





Gen matK

Gen matK adalah gen penyandi protein maturase K, suatu enzim yang berperan dalam pemotongan intron kloroplas. Gen ini memiliki laju mutasi yang hampir serupa dengan gen COI pada hewan sehingga dapat memberikan kemampuan diskriminasi spesies tumbuhan yang baik. Namun, dikarenakan variabilitas sekuensnya, gen ini menjadi cukup menantang untuk diamplifikasikan secara PCR terkhususnya pada kelompok non angiosperm. Diperkirakan sekitar 80% gymnosperm dan sekitar 10% cryptogram dapat berhasil diamplifikasi dengan primer PCR matK yang ada.

Gen rbcL

Gen rbcL adalah gen penyandi subunit besar dari enzim ribulosa 1,5-bifosfat karboksilase (RuBisCO), yang berperan dalam proses fotosintesis. Gen ini berada pada sekuens DNA kloroplas dan umum digunakan untuk mengidentifikasi spesies tumbuhan. Tidak seperti gen matK, sekuens gen rbcL cenderung lebih terkonservasi sehingga kemampuan diskriminasi spesies tumbuhannya tidak sebaik gen matK. Namun, gen rbcL lebih mudah untuk diamplifikasi dan disejajarkan sekuensnya dibandingkan gen matK. Untuk meningkatkan resolusi identifikasi spesies tumbuhan, direkomendasikan untuk menggunakan sekuens gen rbcL bersamaan dengan gen matK.

Sekuens trnH-psbA

Sekuens trnH-psbA adalah sekuens intergenetik yang berada di antara gen penyandi tRNA histidin (trnH) dan gen penyandi sub unit D1 dari kompleks protein fotosistem 2 (psbA). Sekuens ini merupakan marka genetik sekunder yang dapat digunakan untuk melengkapi gen matK atau rbcL. Penambahan sekuens ini telah terbukti dapat meningkatkan kemampuan diskriminasi tumbuhan, seperti pada *Ficus*, *Alnus*, *Quercus*, *Salix* dan lain sebagainya. Bahkan sekuens ini memiliki kemampuan diskriminasi spesies tumbuhan secara umum yang lebih baik daripada rbcL maupun matK sekalipun. Meskipun demikian sekuens ini cukup menantang untuk diamplifikasi karena keberadaan homopolimer yang mempersulit proses PCR sekuens ini, yang menjadi alasan penempatan marka ini sebagai marka sekunder (MS).

DNA Barcoding Services

Barcode Your Life with Genetika Lab

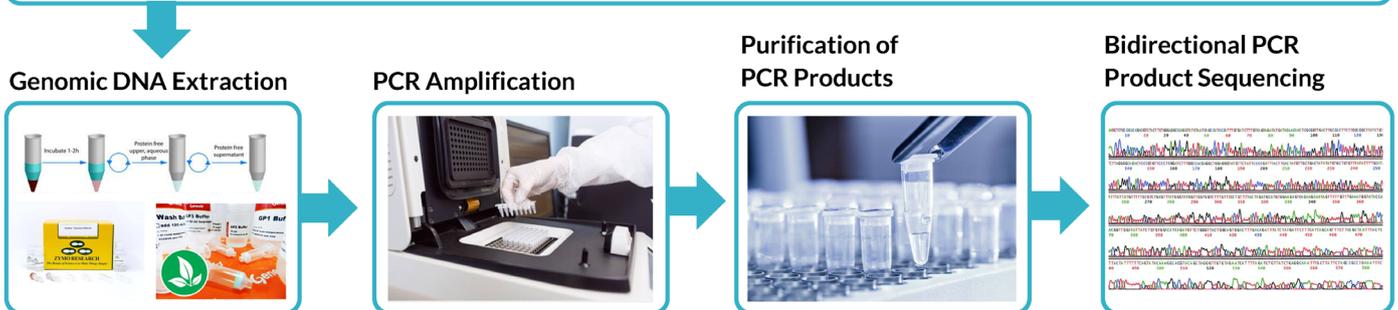
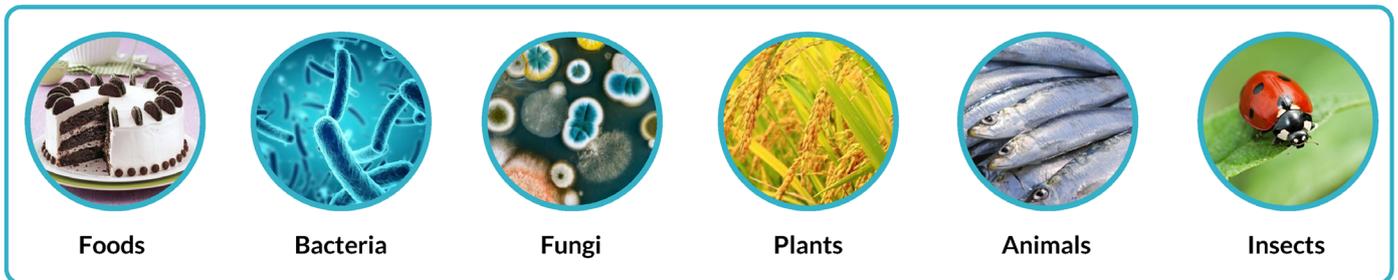


What is DNA Barcoding?

DNA barcoding is a method of species identification using a short section of DNA from a specific gene or genes.

How Does It Work?

Types of Samples



What Will You Get From Genetika Lab?

- Gel Photo of PCR Product
- Sequence Assembly
- Top 10 Hit BLAST Results against NCBI Database (excluding uncultured sample sequence)
- Genomic DNA Concentration Measurement
- Phylogenetic Tree Construction (NCBI BLAST Tree Method)
- Turnaround Time: 14 days.

What are The Advantages?



Fast



Accurate



Simple

SCAN BARCODE

Untuk Pertanyaan Lebih Lanjut Terkait DNA Barcoding Services



LIFE SCIENCE GAZETTE

Fungal & Bacteria DNA Barcoding

Volume 1

June 2024

PT. Genetika Science Indonesia

Rukan Great Wall Blok C No. 19-21
Green Lake City, Kel. Petir, Kec. Cipondoh,
Kota Tangerang, Banten 15147, Indonesia.

+62 21 5433 2034

+62 21 5433 2425

+62 21 5433 2701

www.ptgenetika.com

www.instagram.com/genetikascience

www.linkedin.com/company/genetikascience/

www.facebook.com/GenetikaScience/

