

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Isolasi DNA dilakukan dengan melalui beberapa tahap yaitu pembuatan pelet sel, lisis sel, presipitasi protein, serta presipitasi dan rehidrasi DNA, dan menghasilkan isolat kromosom utuh dari *Salmonella typhi*.

Primer yang digunakan untuk amplifikasi adalah PhoQFWD dan PhoQREV.

Formula PCR untuk satu kali reaksi (25 μ L) adalah sebagai berikut:

• Buffer PCR 10X	2.5 μ L
• MgCl ₂ 25 mM	1.5 μ L
• dNTP 200 μ L	0.5 μ L
• TaqPolimerase 5U/ μ L	0.2 μ L
• Primer (PhoQFWD) 30pmol/ μ L	0.5 μ L
• Primer (PhoQREV) 30pmol/ μ L	0.5 μ L
• Templat	0.5 μ L
• ddH ₂ O	18.8 μ L

Kondisi PCR yang digunakan untuk mengamplifikasi gen *phoQ* adalah sebagai berikut :

- jumlah siklus : 30 siklus
- tahap denaturasi : 94°C, 1 menit
- tahap *annealing* : 53°C, 1 menit
- tahap ekstensi : 72°C, 2 menit

Kloning dari *phoQ* didapat dengan cara melakukan beberapa tahap yaitu purifikasi dari hasil PCR, ligasi gen dengan vektor pGEM-T easy, dan transformasi. Dari hasil

transformasi didapat 37 koloni putih dan 11 koloni biru pada medium LB agar yang mengandung ampicillin, IPTG, dan X-gal. Proses karakterisasi dilakukan dengan metode lisis cepat dari 6 koloni putih secara acak. Koloni yang mengandung plasmid tanpa DNA sisipan digunakan sebagai kontrol. Koloni yang diperkirakan mengandung DNA sisipan adalah koloni bernomor 9, 18, 24, dan 34.

5.2 Saran

- Untuk identifikasi DNA sisipan pada plasmid, perlu dilakukan isolasi plasmid dan pemotongan plasmid dengan enzim restriksi. Setelah itu, dilakukan sekuensing DNA untuk mengetahui urutan pasang basa dari DNA sisipan dan membandingkan dengan urutan pasang basa dari gen *phoQ*.
- Hasil kloning penelitian ini dapat dikombinasikan dengan gen represor dari *E. coli* serta gen promoter represor dan gen reporter berupa GFP untuk kemudian digunakan untuk mendapatkan sistem skrining terhadap antibiotik yang bekerja menghambat PhoP-PhoQ *two component system*.