

**THE EFFECTS OF TRANSFORMATION DURATION ON THE QUANTITY OF SWINE PATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* ISOLATE****Pengaruh Lama Waktu Transformasi Terhadap Jumlah Bakteri *Escherichia coli* Isolat Patogenik Babi****Kalyana Lionita<sup>1\*</sup>, I Gusti Ngurah Kade Mahardika<sup>2</sup>, Anak Agung Sagung Kendran<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, JL. PB Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;<sup>2</sup>Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, JL. PB Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234<sup>3</sup>Laboratorium Diagnosa Klinik, Patologi Klinik, dan Radiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. Raya Sesetan Gg. Markisa No. 6, Denpasar, Bali.\*Corresponding author email: [kalyana@student.unud.ac.id](mailto:kalyana@student.unud.ac.id)

How to cite: Lionita K, Mahardika IGKN, Kendran AAS. 2025. The effects of transformation duration on the quantity of swine pathogenic *Escherichia coli* isolate. *Bul. Vet. Udayana*. 17(2): 263-271. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i02.p04>

**Abstract**

DNA transformation generally still utilizes commercial *Escherichia coli* bacteria, and the use of virulent pathogenic bacteria has never been reported. Utilizing virulent pathogenic bacteria can provide an advantage, as the product can be used as a vaccine against the genetic material in the plasmid and against the pathogenic bacteria itself. This study aims to determine how the transformation duration affects the number of swine *Escherichia coli* pathogenic isolates colonies. The samples of this study are swine *Escherichia coli* pathogenic isolates BPOS4 and *E. coli* BL21 (DE3) which were made into competent cells by calcium chloride heat shock method and then transformed with the different transformation of times using plasmid pGEX-2T+ASF A224L. The results showed that *E. coli* BL21 (DE3) and swine *Escherichia coli* pathogenic isolates BPOS4 had no significant effect on the quantity of colonies after transformation. Although statistically the effect was not significant, *E. coli* BL21(DE3) gave a higher colony count with an average of  $62,4 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L compared to *E. coli* BPOS4 of  $33,45 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. The transformation time has no significant effect on the number of bacterial colonies after transformation, however, the best transformation time is shown by the treatment of 60 seconds with an average colony of  $86,5 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. It can be concluded that the colonies of *E. coli* BL21 (DE3) and *E. coli* BPOS4 transformed with plasmid pGEX-2T+ASF A224L can grow optimally in 60 seconds. Further research can be conducted, such as developing *Escherichia coli* vaccines using pathogenic strains.

Keywords: *Escherichia coli*, plasmid, transformation, heat shock

### Abstrak

Transformasi DNA pada umumnya masih memanfaatkan penggunaan bakteri *Escherichia coli* komersial dan penggunaan bakteri patogenik lapangan yang ganas belum pernah dilaporkan. Pemanfaatan bakteri patogenik dapat memberikan keunggulan berupa kekebalan ganda yang mana produknya mampu mengatasi penyakit yang disebabkan oleh gen plasmid dan penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh lamanya waktu transformasi terhadap jumlah koloni bakteri *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4. Sampel penelitian ini adalah *E. coli* BL21 (DE3) dan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 yang di buat menjadi sel kompeten dengan metode *calcium chloride heat shock* (kejutan panas kalsium klorida) kemudian ditransformasikan dengan waktu transformasi yang berbeda menggunakan plasmid pGEX-2T+ASF A224L. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah koloni setelah transformasi. Walaupun secara statistika berpengaruh tidak nyata, *E. coli* BL21(DE3) memberikan rata rata lebih tinggi sebesar  $62,4 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L dibandingkan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 sebesar  $33,45 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. Perlakuan waktu transformasi berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah koloni bakteri setelah transformasi, meskipun demikian waktu transformasi terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 60 detik dengan rata rata koloni sebesar  $86,5 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. Dapat disimpulkan bahwa koloni *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 yang ditransformasikan dengan plasmid pGEX-2T+ASF A224L dapat tumbuh dengan optimal di waktu 60 detik. Penelitian lanjutan dapat dilakukan seperti pengembangan vaksin *Escherichia coli* yang menggunakan strain patogenik lapangan.

Kata kunci: *Escherichia coli*, plasmid, transformasi, *heat shock*

### PENDAHULUAN

Vaksin berbasis bakteri patogen yang memproduksi protein rekombinan memiliki potensi besar untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut serta penyakit lain yang gennya telah disisipkan ke dalam plasmid dan ditransformasikan ke dalam bakteri. Salah satu langkah kunci dalam teknologi DNA rekombinan untuk pengembangan vaksin adalah proses transformasi plasmid ke dalam bakteri. Transformasi ini umumnya menggunakan strain bakteri laboratorium nonpatogenik karena kemampuannya untuk tumbuh dengan cepat dalam medium yang minimal dan dapat mencapai kepadatan sel yang maksimal (Liu et al., 2018). Di sisi lain, penggunaan bakteri patogen lapangan yang virulen belum pernah dilaporkan. Pemanfaatan bakteri patogen lapangan yang virulen dapat menawarkan keuntungan, yakni menghasilkan produknya dapat digunakan sebagai vaksin terhadap materi genetik dalam plasmid serta vaksin terhadap bakteri patogenik itu sendiri.

Produksi protein rekombinan melalui proses transformasi DNA pada umumnya masih memanfaatkan penggunaan bakteri *Escherichia coli* komersial strain BL21(DE3) (Li, Nimtz, dan Rinas, 2014) dan penggunaan bakteri *E. coli* patogenik belum pernah dilaporkan. Bakteri *E. coli* pada babi merupakan bakteri yang ada di saluran pencernaan dan biasanya menyerang anak babi. Hal ini di dukung dengan terdapatnya data penelitian oleh Besung (2010) yang menggunakan 2005 sample feses anak babi dan 846 ekor (42%) diantaranya positif kolibasilosis. Dengan demikian dapat dikatakan bakteri *E. coli* merupakan salah satu musuh bagi peternak. Penanganan kasus kolibasilosis pada umumnya menggunakan antibiotika tetapi penggunaan dosis antibiotika yang terlalu sering dapat menimbulkan kejadian resistensi. Pengembangan penelitian yang memanfaatkan bakteri *E. coli* patogenik strain lapangan khususnya bakteri *E. coli* isolat patogenik pada babi dapat menjadi sebuah langkah strategis menanggulangi kejadian resistensi.

Transformasi bakteri dapat dilakukan menggunakan metode *calcium chloride heat shock*, di mana hasilnya hanya dapat dipengaruhi oleh waktu dan suhu *heat shock* (Bernadus, Kolondam, dan Fatimawali, 2019). Suhu optimal untuk transformasi *E. coli* dengan metode *heat shock* ada pada suhu 42°C (Bernard, Jack, dan Cheryl, 2010) namun belum ditemukan kajian pasti mengenai waktu optimal untuk transformasi *E. coli*. Pada sebuah protokol manual pembuatan sel kompeten dalam website [www.aligent.com](http://www.aligent.com) (2015) disebutkan bahwa waktu efisien untuk transformasi *E. coli* BL21 berkisar di rentan 45–60 detik, kemudian menurut Ekaningtiyas (2016) dalam jurnalnya menyatakan bahwa waktu optimal untuk transformasi adalah 90 detik. Berdasarkan uraian diatas, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh waktu transformasi bakteri *E. coli* khususnya pada *E. coli* isolat patogenik babi terhadap jumlah koloni yang terbentuk.

## METODE PENELITIAN

### Kelaikan etik hewan coba

Seluruh prosedur penelitian ini tidak memerlukan persetujuan kelayakan etik karena tidak melakukan intervensi terhadap hewan hidup maupun hewan coba.

### Objek Penelitian

Objek penelitian yang digunakan adalah bakteri *E. coli* BL21 dan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4. Kedua jenis bakteri tersebut dibuat menjadi sel kompeten yang kemudian ditransformasikan dengan waktu transformasi berbeda menggunakan plasmid pGEX-2T+ASF A224L dengan metode *calcium chloride heat shock*.

### Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 2 faktor yaitu kelompok waktu dan jenis bakteri dengan 5 kali ulangan. Adapun kode sampel pada setiap perlakuan waktu meliputi (T1) untuk waktu transformasi 30 detik, (T2) untuk waktu transformasi 60 detik dan (T3) untuk waktu transformasi 120 detik.

### Pembuatan Media *Terrific Broth* (TB)

Pembuatan media menggunakan Invitrogen® Terrific broth powder sebanyak 23,3 gr yang dilarutkan dalam 500 mL aquades pada Erlenmeyer kemudian ditambahkan 2 mL gliserol sembari diaduk perlahan agar tidak terjadi pengendapan. Tabung Erlenmeyer dipanaskan dalam oven selama 10 menit lalu didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit, dan disimpan dalam autoclave selama 24 jam.

### Pembuatan Sel Kompeten

Pembuatan sel kompeten berasal dari 10 µL bakteri *E. coli* yang dikulturkan dalam media *Terrific Broth* sebanyak 10 mL yang telah mengandung 10 µL antibiotik ampicillin. Inkubasi dilakukan dengan meletakkan *centrifuge tubes* berisi *E. coli* tersebut dalam mesin sentrifusi pada kecepatan 200 rpm, suhu 37°C, selama 48 jam dalam posisi miring. Tepat 48 jam setelah pengkulturan, *centrifuge tubes* tersebut di sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang ke wadah kosong dan NaCl sebanyak 10 mL ditambahkan, lalu larutan dihomogenkan, pastikan tidak ada endapan yang terbentuk. Proses sentrifusi diulang pada suhu 4°C dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit sebanyak tiga kali. Setelah supernatan dibuang, 10 mL CaCl<sub>2</sub> ditambahkan, dan larutan diinkubasi dalam lemari es pada suhu 4°C selama 30 menit. Proses sentrifusi diulang kembali pada suhu 4°C dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit, supernatan yang terbentuk dibuang dan 1 mL CaCl<sub>2</sub> ditambahkan. Campuran dihomogenkan, lalu dipindahkan ke mikrotube ukuran 2 mL sebanyak 200 µL per tabung.

## Transformasi DNA bakteri *E. coli*

Plasmid yang mengandung gen pGEX-2T+ASF A224L ditransformasikan pada *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* BPOS4 yaitu 0,5 µL larutan plasmid dipipet kedalam masing masing *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* BPOS4 100 µL. Langkah ini dilakukan pada 30 falcon yang berbeda untuk variasi waktu dan jenis bakteri pada heat shock. Langkah selanjutnya diinkubasi pada suhu 0° C (es) selama 30 menit, kemudian di heat shock dengan inkubasi pada thermo block di suhu 42° C dengan variasi waktu yang berbeda (A) *E. coli* BL21(DE3) 30 detik, (B) *E. coli* BL21(DE3) 60 detik, (C) *E. coli* BL21(DE3) 120 detik, (D) *E. coli* BPOS4 30 detik, (E) *E. coli* BPOS4 60 detik, dan (F) *E. coli* BPOS4 120 detik. Setelah itu tambahkan 100 µL SOC media dan masukan kedalam inkubator shaker selama 1 jam. Selanjutnya, dilakukan pengenceran 1:10<sup>5</sup> menggunakan aquabidest steril pada 30 falcon tersebut dan di *plating*. Masing-masing biakan pengenceran 10<sup>6</sup> dipipet sebanyak 100 µL dan di spread pada media MH agar yang mengandung ampicilin 3 µL kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Transformasi dikatakan berhasil bila terbentuknya koloni *E. coli* pada media yang mengandung ampisillin.

## Polymerase Chain Reaction (PCR)

Prosedur PCR dilakukan sesuai dengan protokol kerja dari *cold spring harbor laboratory* (2015) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 9 µL primer FA224L dan RA224L serta 1 µL isolat bakteri *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 yang telah di isolasi ditambahkan ke masing masing microtube. Homogenkan campuran tersebut dan masukkan ke mesin PCR selama 2,5 jam. Mesin PCR diatur dengan tahapan pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, annealing pada suhu 59°C selama 15 detik, ekstensi pada suhu 72°C selama 45 detik, dan post-PCR pada suhu 28°C selama 30 detik. Agarose 1% disiapkan yaitu sebanyak 0,5 gr bubuk agarosa dicampur dengan 50 mL aquadest buffer kemudian dimasukkan ke oven selama 1 menit. Setelah itu, 4 µL EtBr (etidium bromida) ditambahkan, dan larutan dicetak dalam cetakan sisir hingga mengeras. *Ladder* (marker) juga di masukkan ke sumuran gel di sisi sampel. Elektroforesis dilakukan selama 30 menit. Setelah itu hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV transluminator.

## Analisis data

Analisis data pengamatan menggunakan analisis sidik ragam *oneway anova* dan jika hasilnya berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Pada penelitian ini transformasi menggunakan metode *calcium chloride heat shock* dilakukan pada beberapa waktu untuk melihat waktu yang paling optimal pada transformasi. Tahapan *heat shock* merupakan salah satu hal yang mempengaruhi keberhasilan transformasi. Metode ini dapat membuat DNA mampu melewati dinding sel inang (Li *et al.*, 2010). Contoh koloni yang tubuh setelah ditransformasi dengan plasmid pGEX-2T+ASF A224L dapat dilihat pada Gambar 1 (1) *E. coli* BL21(DE3) (2) *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4, ditumbuhkan pada media MH (Mueller Hinton) agar yang diberikan antibiotik ampicillin kemudian diinkubasi 48 jam. Data hasil perhitungan koloni bakteri secara manual juga di tampilkan dalam Tabel 1. Data pada Tabel 1 tidak langsung di analisis menggunakan SPSS karena data jumlah koloni *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 yang tumbuh perlu dikalikan dengan persentase hasil uji PCR.

Uji PCR dilakukan dengan mengisolasi plasmid dari 8 sampel koloni bakteri *E. coli* BPOS4 menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Geneaid). Hasil uji PCR dapat dilihat pada Gambar 2

dimana satu dari delapan koloni tersebut terkonfirmasi membawa gen ASF A224L yang utuh dengan panjang pita diantara 600-700bp. Panjang pita DNA yang diharapkan adalah 672bp. Kemudian data pada jumlah koloni *E. coli* BPOS4 pada Tabel 1 akan dikalikan dengan persentase hasil PCR sebesar 12,5% dan seluruh data yang bernilai 0 (nol) akan ditransformasi menggunakan transformasi logaritma lalu dianalisis sidik ragam *oneway* ANOVA dan uji BNT jika berpengaruh nyata atau sangat nyata.

Hasil analisis tidak dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 5% karena kedua faktornya memiliki nilai berpengaruh tidak nyata ( $P \geq 0,05$ ). Hasil analisis statistika menunjukkan jenis bakteri berpengaruh tidak nyata ( $P \geq 0,05$ ) dengan nilai P sebesar 0,668 terhadap jumlah koloni bakteri *E. coli* setelah transformasi. Walaupun secara statistik berpengaruh tidak nyata, jumlah koloni bakteri *E. coli* lebih tinggi seperti yang tertera pada Tabel 2 diperoleh pada perlakuan *E. coli* BL21 sebesar  $62,4 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L sedangkan dengan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 diperoleh  $33,45 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. Perlakuan waktu transformasi berpengaruh tidak nyata ( $P \geq 0,05$ ) dengan nilai P sebesar 0,780 terhadap jumlah koloni *E. coli* setelah di transformasi. Jumlah koloni *E. coli* tertinggi di peroleh pada perlakuan 60 detik sebesar  $86,5 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L dan jumlah koloni *E. coli* terendah di peroleh pada perlakuan waktu 30 detik sebesar  $26,65 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L.

## Pembahasan

Dalam proses transformasi, bakteri *Escherichia coli* perlu diinduksi menjadi sel kompeten dengan menambahkan kation divalen. Di antara berbagai kation yang telah diuji ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , dan  $\text{Rb}^+$ ), ion  $\text{Ca}^{2+}$  menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dalam meningkatkan efisiensi transformasi *E. coli* (Yoshida dan Sato, 2009). Penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  menyebabkan perbedaan tekanan osmotik antara lingkungan luar dan dalam sel bakteri. Penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  yang dilanjutkan kejutan panas pertama kali dilaporkan oleh Mandel dan Higa (1970). Heat shock atau kejutan panas digunakan untuk membentuk pori-pori sementara pada membran sel, sehingga memungkinkan transfer DNA eksogen ke dalam sel. Hal tersebutlah yang menjadi dasar dilakukannya transformasi dengan metode *calcium chloride heat shock* dalam penelitian ini.

Transformasi plasmid pGEX-2T+ASF A224L pada *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* BPOS4 dengan tiga variasi waktu transformasi —30 detik (T1), 60 detik (T2), dan 120 detik (T3)— dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada medium Mueller Hinton (MH) agar yang mengandung antibiotik ampisilin, diikuti dengan inkubasi selama 48 jam. Langkah ini bertujuan untuk mengevaluasi keberhasilan transformasi melalui seleksi menggunakan antibiotik (Casali dan Preston, 2003). Berdasarkan hasil yang disajikan pada Gambar 1, transformasi plasmid dinyatakan berhasil karena terdapatnya koloni *E. coli* BL21(DE3) dan *E. coli* BPOS4 rekombinan pada medium yang mengandung ampisilin.

Koloni *E. coli* BL21(DE3) hasil transformasi yang telah tumbuh diasumsikan mengandung 100% gen plasmid ASF A224L yang disisipkan ke dalam sel. Secara alami *E. coli* BL21(DE3) tidak memiliki resistensi terhadap ampisilin (Dixon, Ahmed, Mohamed, Felton, dan Fowler, 2022). Namun koloni *E. coli* BL21(DE3) hasil transformasi dapat tetap tumbuh pada media yang berisikan ampisilin dikarenakan *E. coli* BL21(DE3) telah mengandung plasmid yang membawa sifat resisten terhadap antibiotik tersebut (Casali dan Preston, 2003). Berbeda dengan koloni *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 yang sudah pernah dilakukan uji laboratorium dan hasilnya resisten terhadap antibiotik ampisilin, sehingga koloni yang tumbuh perlu dilakukan uji konfirmasi berupa uji *polymerase chain reaction* (PCR). Isolasi plasmid menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Geneaid) kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis gel agarose 1% dan di visualisasi sinar UV. Visualisasi gel agarosa dilakukan menggunakan

UV transilluminator. Visualisasi UV hasil transformasi dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil elektroforesis terlihat dengan munculnya satu pita (band) DNA yang berada pada ukuran antara 600 bp dan 700 bp. Ukuran gen ASF A224L adalah 672 bp (Mahardika, komunikasi pribadi). Hal ini membuktikan bahwa transformasi plasmid pada *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 berhasil dilakukan pada bakteri *E. coli* dengan presentase sebesar 12,5%.

Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis bakteri berpengaruh tidak nyata ( $P \geq 0,05$ ) terhadap jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* setelah transformasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa *E. coli* BL21(DE3) memberikan jumlah koloni lebih tinggi dengan rata rata sebesar  $62,4 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L dibandingkan dengan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 sebesar  $33,45 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L. *Escherichia coli* BL21(DE3) dapat menghasilkan jumlah koloni yang lebih tinggi dibandingkan *E. coli* isolat patogenik babi BPOS4 karena *E. coli* BL21(DE3) merupakan strain laboratorium yang telah dimodifikasi dan dioptimalkan untuk pertumbuhan yang cepat dalam media yang minimal (Rosano dan Ceccarelli, 2014). Hal tersebut di dukung sebuah penelitian oleh Hadi dan Noviyanti (2017) yang memanfaatkan *E. coli* BL21(DE3) untuk pengekspresian gen dan dalam prosesnya ditemukan bahwa *E. coli* BL21(DE3) memiliki kemampuan yang lebih baik dalam memanfaatkan nutrisi dalam media pertumbuhan sehingga koloni yang terbentuk lebih banyak dibandingkan dengan strain lapangan yang biasanya lebih bervariasi secara genetik dan memerlukan kondisi pertumbuhan yang lebih spesifik.

Waktu transformasi berpengaruh tidak nyata ( $P \geq 0,05$ ) terhadap jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* setelah transformasi. Jumlah koloni *E. coli* tertinggi di peroleh pada perlakuan waktu 60 detik sebesar  $86,5 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L dan jumlah koloni *E. coli* terendah di peroleh pada perlakuan waktu 30 detik sebesar  $26,65 \times 10^5$  CFU/100 $\mu$ . Hal ini sejalan dengan sebuah protokol manual dalam website [www.aligent.com](http://www.aligent.com) tahun (2015) yang menyatakan bahwa transformasi yang optimal diamati ketika transformasi Heat shock dilakukan selama 45–60 detik. Hasil transformasi akan menurun ketika dipanaskan selama kurang dari 45 detik atau selama lebih dari 60 detik. Penurunan hasil transformasi ditunjukkan pada waktu 120 detik karena terdapatnya kemungkinan sel bakteri yang rusak atau plasmid tidak dapat menyisip kedalam sel bakteri. Hal ini didukung dalam sebuah jurnal oleh Singh, Yadav, Ma, dan Amoah (2019) yang menyebutkan kelangsungan hidup sel bakteri dapat menurun seiring dengan lamanya paparan suhu tinggi sehingga berkontribusi terhadap penurunan efisiensi transformasi yang diamati.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Perlakuan bakteri *Escherichia coli* BL21 dan *E. coli* BPOS4 yang ditransformasikan dengan plasmid pGEX2T+ASF A224L berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah koloni *E. coli* setelah transformasi. Jumlah transforman *E. coli* terbanyak ditemukan pada waktu transformasi 60 detik walaupun secara statistika berbeda tidak nyata dengan transforman di waktu 30 dan 120 detik.

### Saran

Diperlukan penelitian lanjutan yang berfokus pada pengembangan vaksin *Escherichia coli* dengan strain lapangan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada dosen pembimbing dan dosen penguji atas segala masukan dan bimbingan yang telah diberikan serta staf Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agilent Technologies. (2015). Instruction Manual BL21(DE3) Competent Cells, BL21(DE3) pLysS Competent Cells, and BL21 Competent Cells. Retrieved November 12, 2024, from [www.agilent.com](http://www.agilent.com)
- Bernadus, Z. G., Kolondam, B., & Fatimawali. (2019). Transformasi Plasmid Yang Mengandung Gen MERb Pada Escherichia Coli BL21(DE3). *Pharmacon*, 8. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29254>
- Bernard, R., Jack, J. P., & Cheryl, L. P. (2010). *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA* (4th Edition). Washington: American Society for Microbiology Press.
- Besung, I. N. K. (2010). Kejadian Kolibasilosis Pada Anak Babi. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 13(1).
- Casali, N., & Preston, A. (2003). *E. coli Plasmid Vectors*. New Jersey: Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1592594093>
- Cold Spring Harbor Laboratory. (2015). *Terrific Broth*. (7). <https://doi.org/10.1101/pdb.rec087874>
- Dixon, B., Ahmed, W. M., Mohamed, A. A., Felton, T., & Fowler, S. J. (2022). Metabolic phenotyping of acquired ampicillin resistance using microbial volatiles from Escherichia coli cultures. *Journal of Applied Microbiology*, 133(4), 2445–2456. <https://doi.org/10.1111/jam.15716>
- Ekaningtias, M. (2016). Transformasi Plasmid Dengan Sel Bakteri Escherichia coli Menggunakan Metode Heat Shock. *Oryza Jurnal Pendidikan Biologi*, 2.
- Hadi, S. N., & Noviyanti, R. (2017). Strategi Kloning Dan Ekspresi Gen var2csa Pada Sistem Escherichia coli Sebagai Langkah Pendahuluan Untuk Ekspresi Gen Pada Sistem Eukariot Tanaman. *19*(1). <https://doi.org/10.20884/1.agrin.2015.19.1.351>
- Li, Z., Nimtz, M., & Rinas, U. (2014). The metabolic potential of Escherichia coli BL21 in a defined and rich medium. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 45. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-45>
- Liu, Y.-C., Sun, X., Driscoll, C., Miquelle, D. G., Xu, X., Martelli, P., ... Luo, S.-J. (2018). Genome-Wide Evolutionary Analysis of Natural History and Adaptation in the World's Tigers. *Current Biology*, 28(23), 3840-3849.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.09.019>
- Mandel, M., & Higa, A. (1970). *Calcium-dependent bacteriophage DNA infection*.
- Rosano, G. L., & Ceccarelli, E. A. (2014). Recombinant protein expression in Escherichia coli: advances and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00172>
- Singh, M., Yadav, A., Ma, X., & Amoah, E. (2019). Plasmid DNA Transformation in Escherichia Coli: Effect of Heat Shock Temperature, Duration, and Cold Incubation of CaCl<sub>2</sub> Treated Cells. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6(4), 561–568.
- Yoshida, N., & Sato, M. (2009). Plasmid uptake by bacteria: a comparison of methods and efficiencies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83(5), 791–798. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2042-4>

**Tabel**

Tabel 1. Data asli jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* setelah transformasi dan inkubasi 48 jam ( $\times 10^6$ ) CFU/ $\mu$ L

Jenis Bakteri	<i>Escherichia coli</i> BL21			<i>Escherichia coli</i> BPOS 4		
	Ulangan	T1	T2	T3	T1	T2
1	9	<b>238</b>	55	2	<b>1</b>	2
2	42	<b>50</b>	9	73	<b>59</b>	124
3	1	<b>0</b>	0	252	<b>259</b>	110
4	5	<b>39</b>	16	164	<b>296</b>	192
5	4	<b>0</b>	0	87	<b>229</b>	157
Total	61	<b>327</b>	80	578	<b>844</b>	585
Rata Rata	12	<b>65</b>	16	116	<b>169</b>	117

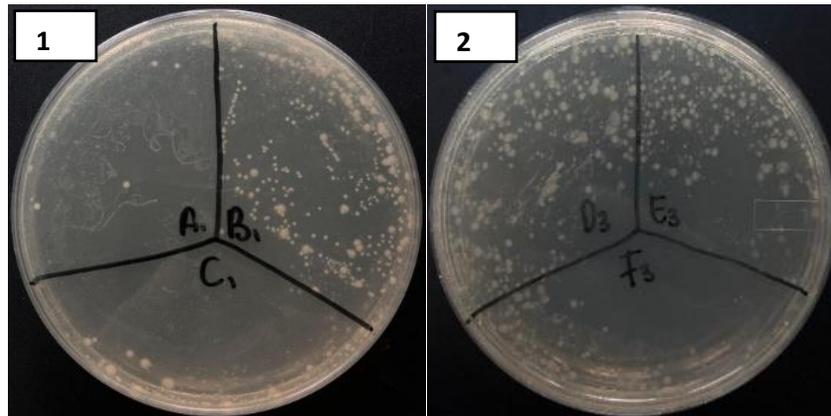
Keterangan: Angka angka yang tertera pada tabel diatas merupakan hasil perhitungan manual koloni *E. coli* setelah di transformasi. T1 adalah waktu transformasi 30 detik, T2 untuk waktu transformasi 60 detik dan T3 untuk waktu transformasi 120 detik.

Tabel 2. Tabel data dua arah antara perlakuan jenis bakteri dengan perlakuan waktu transformasi ( $\times 10^5$  CFU/100 $\mu$ L)

Petak Utama	Anak Petak (Waktu Transformasi)			Total	Rata Rata
	30	60	120		
<i>Escherichia coli</i> BL21(DE3)	122	654	160	936	62,4 (0,39)
<i>Escherichia coli</i> BPOS4	144,5	211	146,3	501,75	33,45 (0,41)
Total	266,5	865	306,25	1437,75	
Rata Rata	26,65 (0,39)	86,5 (0,42)	30,63 (0,38)		

Keterangan: Angka-angka yang terdapat di tabel tersebut merupakan data asli, sedangkan angka yang di dalam kurung merupakan data transformasi.

**Gambar**



Gambar 1. Koloni bakteri *E. coli*. Keterangan: (1) *E. coli* BL21(DE3) kode A1(waktu 30 detik), B1(waktu 60 detik), C1 (waktu 120 detik) (2) Koloni bakteri *E. coli* BPOS4 kode D3(waktu 30 detik), E3(waktu 60 detik), F3 (waktu 120 detik)



Gambar 2. Hasil PCR. Keterangan: Jalur M adalah marker, dimana pita tebal dalam marker adalah 600bp (tanda panah). Jalur 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, dan 10 adalah koloni yang telah di isolasi. Jalur 3 menunjukkan koloni terkonfirmasi membawa gen ASF A224L. Jalur 6 adalah kontrol positif dan jalur 7 adalah kontrol negatif.