

**OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN *SURFACTIN SYNTASE*
DALAM PROSES PCR PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

SKRIPSI

THERESIA INANDA KEMBA

A 201 089



SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA

YAYASAN HAZANAH

BANDUNG

2024

**OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN *SYNTASE*
DALAM PROSES PCR PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

**Theresia Inanda Kemba
A 201 089**

Agustus 2024

Disetujui oleh:

Pembimbing



Irma Mardiah, M.Si

Pembimbing



Himalaya Wana K, M.Pd

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Skripsi ini saya persembahkan kepada Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria sebagai rasa syukur atas rahmat dan berkatnya, serta untuk kedua orang tua saya Bapak Rafael dan ibu Margaretha Mite yang berjuang dan berkorban untuk saya sehingga saya bisa sampai ke titik ini dan adik – adik saya charles kesu, fernando dan claudia santira sebagai alasan saya berjuang lebih keras lagi dan sebagai penguat saya dalam keadaan apapun tidak ada yang paling berharga dan paling tersayang dari pada mereka keluarga saya.

ABSTRAK

Biosurfaktan adalah molekul amfifilik yang dapat menurunkan tegangan permukaan cairan dengan polaritas berbeda, seperti air dan minyak, dan diproduksi oleh mikroorganisme sebagai metabolit sekunder dari dinding selnya atau disintesis secara ekstraseluler. Penelitian penapisan bakteri penghasil biosurfaktan, salah satunya adalah *Bacillus cereus* dengan jenis biosurfaktan golongan lipopeptida yang juga memiliki aktivitas antibakteri. Biosurfaktan dari bakteri tersebut juga dapat digunakan sebagai agen antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hasil kondisi optimum suhu penempelan dari pasangan primer srfA1F dan srfA1R, srfA2F dan srfA2R, srfA3F dan srfA3R, srfA5F dan srfA5R, srfB1F dan srfB1R, srfB2F dan srfB2R, srfB3F dan srfB3R, srfB4F dan srfB4R untuk memunculkan gen *surfactin synthase* pada metode PCR. Penelitian ini dimulai dengan meremajakan bakteri *Bacillus cereus*, isolasi genom menggunakan Presto™ Mini gDNA *Bacteria kit*, dan perbanyak gen target melalui PCR. Analisis genom dan fragmen DNA dari gen dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Optimasi suhu penempelan yang digunakan berhasil mendapatkan gen *surfactin* dari beberapa pasangan primer dengan suhu yang optimum yang berbeda-beda. Suhu optimum yang berhasil memunculkan gen *surfactin synthase* 57°C untuk kode gen *surfactin* srfA1, 55°C untuk kode gen *surfactin* srfA2, 54°C untuk kode gen *surfactin* srfA3, 52°C untuk kode gen *surfactin* srfB3, 50°C untuk kode gen *surfactin* srfB4, dan pasangan primer yang berhasil memunculkan gen *surfactin synthase* ada srfA1F dan srfA1R, srfA2F dan srfA2R, srfA3F dan srfA3R, srfB3F dan srfB3R, srfB4F dan srfB4R.

Kata Kunci : Biosurfaktan, *Bacillus cereus*, Gen *surfactin synthase*,

ABSTRACT

Biosurfactants are amphiphilic molecules that can reduce the surface tension of liquids of different polarities, such as water and oil, and are produced by microorganisms as secondary metabolites from their cell walls or synthesized extracellularly. Research on screening biosurfactant-producing bacteria, one of which is Bacillus cereus with a type of lipopeptide biosurfactant which also has antibacterial activity. Biosurfactants from these bacteria can also be used as antimicrobial agents. This research aims to obtain optimal conditions for the sticking temperature of the primer pairs srfA1F and srfA1R, srfA2F and srfA2R, srfA3F and srfB2R, srfB3F and srfB3R, srfB4F and srfB4R to give rise to the surfactin synthase gene in PCR method. This research began by rejuvenating the Bacillus cereus bacteria, isolating the genome using the Presto™ Mini gDNA Bacteria kit, and multiplying the target gene via PCR. Analysis of the genome and DNA fragments of genes was carried out using agarose gel electrophoresis. Optimization of the attachment temperature used succeeded in obtaining surfactin genes from several primer pairs with different optimum temperatures. The optimum temperature that successfully gives rise to the surfactin synthase gene is 57°C for the surfactin gene code srfA1, 55°C for the surfactin gene code srfA2, 54°C for the surfactin gene code srfA3, 52°C for the surfactin gene code srfB3, 50°C for the surfactin gene code srfB4, and The primer pairs that succeeded in bringing out the surfactin synthase gene were srfA1F and srfA1R, srfA2F and srfA2R, srfA3F and srfA3R, srfB3F and srfB3R, srfB4F and srfB4R.

Keywords: *Biosurfactant, Bacillus cereus, Surfactin synthase gene,*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan berkatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN SURFACTIN SYNTASE DALAM PROSES PCR PADA BAKTERI *Bacillus cereus*”**.

Penelitian dan penulisan skripsi dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing ibu Irma Mardiah, M.Si dan ibu Himalaya Wana K, M.Pd yang telah menyediakan waktu dan tenaga untuk memberikan pengarahan, dukungan, dan bimbingan selama penelitian berlangsung hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan, dan nasehat dari berbagai pihak selama penyusunan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan persembahan untuk orang-orang istimewa yaitu :

1. Kepada Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria dengan mengucap syukur atas segala rahmat, karunia, kemudahan yang selalu diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas laporan skripsi ini.
2. Kepada Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, penulis sampaikan ucapan terima kasih banyak telah menerima penulis sebagai salah satu mahasiswa di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan ilmu pelajaran dan pengalaman untuk penulis menjadi lebih baik lagi.
3. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik
4. Kepada Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, penulis sampaikan ucapan terima kasih banyak selama penulis melaksanakan perkuliahan sering diberi kesempatan buat belajar hal-hal baru yang belum pernah penulis dapatkan di bangku sekolah menengah atas.
5. Kepada Bapak Pupung Ismayadi, S.T, M.M., selaku Wakil ketua II Bidang Keuangan, dan juga Dosen Wali yang telah membimbing dan memberi nasehat selama pelaksanaan kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, penulis sampaikan ucapan terima kasih banyak selama perkuliahan bapak selalu memberikan motivasi dan semangat untuk penulis.
6. Kepada seluruh dosen dan staf akademik farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Penulis sampaikan ucapan terima kasih banyak .

7. Kepada kedua orang Tuaku tercinta Bapak Rafael dan ibu Margaretha yang teristimewa, penulis sampaikan terimakasih atas semua pengorbanannya, nasehatnya, supportnya yang selalu mengajarkan anaknya selalu lebih sabar dalam menghadapi apapun makasih ya ma, makasih paa aku sangat mencintai kalian.
8. Terimakasih buat adik – adiku tersayang charles, claudia, dan fernando terimakasih atas semua pengorbanannya, termakasih menjadi mood boster dari penulis, dan lebih semangat lagi dalam menyelesaikan perkuliahan ini. I love you.
9. Terimakasih buat teman – teman , serta besti – besti yang selalalu mendengar keluh kesah, yang selalu jadi tempat melepas beban, terimakasih sudah menjadi support sytem buat penulis.
10. Dan terimakasih buat diri sendiri (Theresia inanda kempa) yang sudah selalu semangat menyelesaikan perkuliahan ini hingga sampai di tahap menyelesaikan skripsi ini, terimakasih tetap bertahan meskipun banyak hal sakit yang selalu terjadi, terimakasih untuk tetap maju berani kedepan meskipun sambil nangis” semoga kedepannya lebih baik lagi dan menjadi orang yang bermanfaat.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih ada banyak kekurangan dan kesalahan dikarenakan kurangnya pengetahuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa mendatang Penulis juga berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan pihak lain yang bersangkutan

Bandung,Agustus 2024

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
KUTIPAN	Error! Bookmark not defined.
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	Error! Bookmark not defined.
1.1. Latar Belakang.....	Error! Bookmark not defined.
1.2. Identifikasi Masalah	Error! Bookmark not defined.
1.3. Tujuan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.4. Kegunaan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.5. Waktu dan tempat.....	Error! Bookmark not defined.
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	Error! Bookmark not defined.
2.1 Biosurfaktan	Error! Bookmark not defined.
2.2 Gen <i>Surfactin Synthase</i>	Error! Bookmark not defined.
2.3 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	Error! Bookmark not defined.
2.4 Isolasi DNA.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	Error! Bookmark not defined.
2.6 Elektrofosis.....	Error! Bookmark not defined.
2.7 DNA Rekombinan	Error! Bookmark not defined.
BAB III TATA KERJA	Error! Bookmark not defined.
3.1. Alat	Error! Bookmark not defined.
3.2. Bahan.....	Error! Bookmark not defined.
3.3. Metode Kerja.....	Error! Bookmark not defined.
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
4.1. PeremajaanIsolat Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	Error! Bookmark not defined.
defined.	
4.2. Perhitungan jumlah koloni bakteri	Error! Bookmark not defined.
4.3. Isolasi genom bakteri <i>Bacillus cereus</i> ..	Error! Bookmark not defined.
4.4. Amplifikasi Gen Pengkode <i>Surfactin</i> ..	Error! Bookmark not defined.

4.5. Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis.....**Error! Bookmark not defined.**

BAB V KESIMPULAN..... **Error! Bookmark not defined.**

5.1. Kesimpulan..... **Error! Bookmark not defined.**

5.2. Alur Penelitian Selanjutnya..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA 13

LAMPIRAN **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3. 1 Komponen PCR	Error! Bookmark not defined.
3. 2 Primer gen <i>surfactin</i> bakteri <i>Bacillus cereus</i>	Error! Bookmark not defined.
4. 1 Jumlah Pengukuran Nilai OD dan jumlah Koloni (TPC)	Error! Bookmark not defined.
4. 2 Tabel suhu <i>annealing</i>	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Stuktur dari Beberapa Biosurfaktan Lipoptida:	Error! Bookmark not defined.
2. 2 <i>Surfactin</i>	Error! Bookmark not defined.
4. 1 Grafik Nilai OD dan Nilai TPC	Error! Bookmark not defined.
4. 2 Hasil Visualisasi ekstraksi DNA	Error! Bookmark not defined.
4. 3 Hasil proses running PCR.....	Error! Bookmark not defined.
4. 4 Adan B Hasil Visualisasi gen <i>surfactin</i>	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan media.....	Error! Bookmark not defined.
2. Pembuatan media, sterilisasi, kultur bakteri	Error! Bookmark not defined.
3. Nilai OD,TPC dan isolasi.....	Error! Bookmark not defined.
4. Deteksi gen <i>Surfactin</i>	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainul, A., Hasbi, M., & Purwanto, E. (2021). Isolation and Identification of Biosurfactant Producing Bacteria From Workshop Wastewater. *Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.31258/jipas.9.1.p.31-37>
- Amanda, K., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Optimasi Suhu Annealing Proses PCR Amplifikasi Gen shv Bakteri Escherichia coli Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1–6.
- Asy'ari, M., & Saifuddin Noer, D. A. (2005). Optimasi Konsentrasi MgCl₂ dan Suhu Annealing pada Proses Amplifikasi Multifragments mtDNA dengan Metoda PCR. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 8(1), 23–27. <https://doi.org/10.14710/JKSA.8.1.23-27>
- Barnum, S. R. (2005). *Biotechnology : an introduction*. 360.
- Besra, L., & Liu, M. (2007). A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD). *Progress in Materials Science*, 52(1), 1–61. <https://doi.org/10.1016/J.PMATSCI.2006.07.001>
- Biologi, D., & Matematika, F. (2018). *DNA PROFILE OF FOLLICLE STIMULATING HORMONE RECEPTOR (FSHR) GENE*. 3(1), 1–11.
- Carson, S., Miller, H. B., Witherow, D. S., Srougi, M. C., States, U., Miller, H. B., AH, A., AIF, A., ..., Carson, S., Miller, H. B., Witherow, D. S., Srougi, M. C., อาริยา เสรีภาพ สุทธิ นาคพร้อม, Magazine, S., Expression, G., Alternatives, A., Manipulation, D. N. A., Li, P., ... Srougi, M. C. (2019). Front-matter. *Molecular Biology Techniques*, 4, i–iii. <http://www.sciencedirect.com:5070/book/9780128180242/molecular-biology-techniques>
- Carter, L., Chase, H. R., Giesecker, C. M., Hasbrouck, N. R., Stine, C. B., Khan, A., Ewing-Peeples, L. J., Tall, B. D., & Gopinath, G. R. (2018). Analysis of enterotoxigenic Bacillus cereus strains from dried foods using whole genome sequencing, multi-locus sequence analysis and toxin gene prevalence and distribution using endpoint PCR analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 284, 31–39. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2018.06.016>
- Chakraborty, S., Ghosh, M., Chakraborti, S., Jana, S., Sen, K. K., Kokare, C., & Zhang, L. (2015). Biosurfactant produced from Actinomycetes nocardiosis A17: Characterization and its biological evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 405–412. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2015.04.068>
- Cole, S. T., & Saint-Girons, I. (2014). Bacterial Genomes-All Shapes and Sizes. *Organization of the Prokaryotic Genome*, 35–62. <https://doi.org/10.1128/9781555818180.CH3>
- Dan, B., Bahan, M., & Alat, D. (2016). SENSITIVITAS GEL RED SEBAGAI PEWARNA DNA PADA GEL ELEKTROFORESIS. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 11(1), 11–14. <https://doi.org/10.15578/BLTA.11.1.2013.11-14>
- Eissn, A. (2017). *11, 1. 15(2)*, 293–308.
- El-Sheshtawy, H. S., & Doheim, M. M. (2014). Selection of Pseudomonas aeruginosa for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity. *Egyptian Journal of Petroleum*, 23(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.EJPE.2014.02.001>

- Fahlevi, M. R., Bakti, D., Sitepu, F. S., & Prasetyo, A. E. (2018). Insect Molecular characterization of *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera ; Curculionidae) From North Sumatra Using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*, 6(2), 259–270.
- Falahul Ilmi, H., & Ari Khusuma, dan. (2022). Variasi Temperatur Boiling pada Amplifikasi Gen inhA *M.tuberculosis* Metode PCR. *Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 14(2), 57–62. <https://doi.org/10.30599/jti.v14i2.1661>
- Femina Carolin, C., Senthil Kumar, P., Chitra, B., Fetcia Jackulin, C., & Ramamurthy, R. (2021). Stimulation of *Bacillus* sp. by lipopeptide biosurfactant for the degradation of aromatic amine 4-Chloroaniline. *Journal of Hazardous Materials*, 415. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.125716>
- Fenibo, E. O., Ijoma, G. N., Selvarajan, R., & Chikere, C. B. (2019). Microbial Surfactants: The Next Generation Multifunctional Biomolecules for Applications in the Petroleum Industry and Its Associated Environmental Remediation. *Microorganisms*, 7(11). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7110581>
- Gayathiri, E., Prakash, P., Karmegam, N., Varjani, S., Awasthi, M. K., & Ravindran, B. (2022). Biosurfactants: Potential and Eco-Friendly Material for Sustainable Agriculture and Environmental Safety—A Review. *Agronomy 2022, Vol. 12, Page 662, 12(3)*, 662. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY12030662>
- Ghosh, S., Ray, A., & Pramanik, N. (2020). Self-assembly of surfactants: An overview on general aspects of amphiphiles. *Biophysical Chemistry*, 265. <https://doi.org/10.1016/J.BPC.2020.106429>
- Gudiña, E. J., Rangarajan, V., Sen, R., & Rodrigues, L. R. (2013). Potential therapeutic applications of biosurfactants. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(12), 667–675. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2013.10.002>
- Hamoen, L. W., Venema, G., & Kuipers, O. P. (2003). Controlling competence in *Bacillus subtilis*: shared use of regulators. *Microbiology (Reading, England)*, 149(Pt 1), 9–17. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.26003-0>
- Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1). <https://doi.org/10.22373/crc.v2i1.3248>
- Hu, F., Liu, Y., & Li, S. (2019). Rational strain improvement for surfactin production: Enhancing the yield and generating novel structures. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1089-x>
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J., Jovanovich, H. B., Diego, S., York, N., Boston, B., Sydney, L., & Toronto, T. (1990). *PROTOCOLS ACADEMIC PRESS, INC.*
- Ismail, R., Baaity, Z., & Csóka, I. (2021). Regulatory status quo and prospects for biosurfactants in pharmaceutical applications. *Drug Discovery Today*, 26(8), 1929–1935. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2021.03.029>
- Isothermal, M., Lamp, A., Diagnosis, D., & Feranisa, A. (2016). *Komparasi Antara Polymerase*

Chain Reaction (Pcr) Dan Loop-. 3, 145–151.

- Kim, S., Sun, J., Park, H. Y., Son, K. H., & Jeong, T. S. (2015). (12) *United States Patent* (Vol. 2, Issue 12).
- Kraas, F. I., Helmetag, V., Wittmann, M., Strieker, M., & Marahiel, M. A. (2010). Functional dissection of surfactin synthetase initiation module reveals insights into the mechanism of lipoinitiation. *Chemistry and Biology*, 17(8), 872–880. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.06.015>
- Kumari, S., & Sarkar, P. K. (2016). *Bacillus cereus hazard and control in industrial dairy processing environment*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.012>
- Kurniati, T. H. (2016). *Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Lingkungan Tercemar Limbah Minyak Dan Potensinya Dalam Mendegradasi Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (Hap)*. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/82397>
- Kuyukina, M. S., Ivshina, I. B., Baeva, T. A., Kochina, O. A., Gein, S. V., & Chereshev, V. A. (2015). Trehalolipid biosurfactants from nonpathogenic *Rhodococcus* actinobacteria with diverse immunomodulatory activities. *New Biotechnology*, 32(6), 559–568. <https://doi.org/10.1016/J.NBT.2015.03.006>
- Maksum, I. P., Lestari, A., Fauzia, R. P., Rachman, S. D., & Soedjanaatmadja, U. M. S. (2019). *Escherichia coli* BL21(DE3) expression system using TorA signal peptide for Recombinant Human Albumin (rHA) secretion. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 10(4), 3319–3324. <https://doi.org/10.26452/IJRPS.V10I4.1640>
- Marrollo, R. (2016). *Chapter 1 - Microbiology of Bacillus cereus A2 - Savini, Vincenzo BT - The Diverse Faces of Bacillus cereus*. 1–13. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128014745000013>
- Maulidi, R. R., Pangaribuan, N. H. D., Ginting, F. B., Sheridan, P. F., & Lubis, Y. E. P. (2020). the Effectiveness Test of Turmeric Extract Toward *Bacillus Cereus* Bacteria With the Comparison of Ciprofloxacin. *Biospecies*, 13(1), 15–22. <https://doi.org/10.22437/biospecies.v13i1.8389>
- Md, F. (2012). Biosurfactant: Production and Application. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 03(04). <https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000124>
- Mnif, I., & Ghribi, D. (2015). Review lipopeptides biosurfactants: Mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. *Biopolymers*, 104(3), 129–147. <https://doi.org/10.1002/BIP.22630>
- Mondal, M. H., Sarkar, A., Maiti, T. K., & Saha, B. (2017). Microbial assisted (*pseudomonas* sp.) production of novel bio-surfactant rhamnolipids and its characterisation by different spectral studies. *Journal of Molecular Liquids*, 242, 873–878. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2017.07.089>
- Nascimento, I. P., & Leite, L. C. C. (2012). Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 45(12), 1102–1111. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2012007500142>

- Ohadi, M., Shahravan, A., Dehghannoudeh, N., Eslaminejad, T., Banat, I. M., & Dehghannoudeh, G. (2020). Potential Use of Microbial Surfactant in Microemulsion Drug Delivery System: A Systematic Review. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 541. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S232325>
- Otzen, D. E. (2017). Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: Same but different? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1859(4), 639–649. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMEM.2016.09.024>
- Pertiwi, N. P. D., Mahardika, I. G. N. ., & Watiniasaih, N. L. (2010). OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE PCR (Polymerase Chain Reaction) PADA IKAN KARANG ANGGOTA FAMILI Pseudochromidae (DOTTYBACK). *Jurnal Biologi*, 19(2), 1–5.
- Plaza, G., Chojniak, J., Rudnicka, K., Paraszkiwicz, K., & Bernat, P. (2015). Detection of biosurfactants in Bacillus species: genes and products identification. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1023–1034. <https://doi.org/10.1111/JAM.12893>
- Pradina, A. S. (2023). *PENINGKATAN PRODUKSI BIOSURFAKTAN LIPOPEPTIDA DARI BAKTERI Bacillus cereus ALP E1 MENGGUNAKAN SUBSTRAT LIMBAH CAIR MINYAK KELAPA SAWIT.*
- Ramarao, N., Tran, S. L., Marin, M., & Vidic, J. (2020). Advanced Methods for Detection of Bacillus cereus and Its Pathogenic Factors. *Sensors 2020, Vol. 20, Page 2667*, 20(9), 2667. <https://doi.org/10.3390/S20092667>
- Rosahdi, T. D., Susanti, Y., & Suhendar, D. (2015). *UJI AKTIVITAS DAYA ANTIOKSIDAN BIOPIGMENT PADA FRAKSI ASETON DARI MIKROALGA Chlorella vulgaris.* IX(1), 1–16.
- Sachdev, D. P., & Cameotra, S. S. (2013). Biosurfactants in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), 1005–1016. <https://doi.org/10.1007/S00253-012-4641-8>
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3). <https://doi.org/10.3390/IJMS17030401>
- Schwarzer, D., Mootz, H. D., Linne, U., & Marahiel, M. A. (2002). Regeneration of misprimed nonribosomal peptide synthetases by type II thioesterases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(22), 14083–14088. <https://doi.org/10.1073/PNAS.212382199>
- Septihanny, R. K., Dwina, D., Jurusan, M., Kimia, T., Malang, N., Soekarno, J., & No, H. (2020). TELAAH PUSTAKA: PEMBUATAN BIOSURFAKTAN MENGGUNAKAN MINYAK JELATAH OLEH BAKTERI BACILLUS SUBTILIS. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 6(2), 504-511-504-511. <https://doi.org/10.33795/DISTILAT.V6I2.117>
- Setiani, N. A., Agustina, N., Mardiah, I., Hamdani, S., & Astriany, D. (2020). Potensi Bacillus cereus dalam produksi biosurfaktan. *Jurnal Biologi Udayana*, 24(2), 135. <https://doi.org/10.24843/jbiounud.2020.v24.i02.p09>
- Setyawati, A. N., Rahmawati, A. W., Firdausi, R. F., Dewi, L. M., Akmalia, S. D., Rahmawati, P. D., & Fasya, A. H. (2024). Examination Technique of KHV in C. rubrofuscus by PCR

- Method at BKIPM Surabaya I, East Java. *JAGO TOLIS : Jurnal Agrokompleks Tolis*, 4(3), 223. <https://doi.org/10.56630/jago.v4i3.666>
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36–40. <https://doi.org/10.22146/IJL.V4I1.65550>
- Shahaliyan, F., Safahieh, A., & Abyar, H. (2015). Evaluation of Emulsification Index in Marine Bacteria *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(7), 1849–1854. <https://doi.org/10.1007/S13369-015-1663-4/METRICS>
- Shaligram, N. S., & Singhal, R. S. (2010). Surfactin – A Review on Biosynthesis, Fermentation, Purification and Applications. *Food Technology and Biotechnology*, 48(2), 119–134. <https://doaj.org/article/2d93f5b1198f4d67a2ca5bfa030db129>
- Silva, N. R. A., Luna, M. A. C., Santiago, A. L. C. M. A., Franco, L. O., Silva, G. K. B., de Souza, P. M., Okada, K., Albuquerque, C. D. C., da Silva, C. A. A., & Campos-Takaki, G. M. (2014). Biosurfactant-and-Bioemulsifier Produced by a Promising *Cunninghamella echinulata* Isolated from Caatinga Soil in the Northeast of Brazil. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 15377. <https://doi.org/10.3390/IJMS150915377>
- Slamat, Marsoedi, Mursyid, A., & Arfiati, D. (2016). Konservasi Genetik Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch 1792) di Perairan Rawa, Kalimantan Selatan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 18(1), 9–15. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jppi/article/view/1064>
- Steller, S., Sokoll, A., Wilde, C., Bernhard, F., Franke, P., & Vater, J. (2004). Initiation of surfactin biosynthesis and the role of the SrfD-thioesterase protein. *Biochemistry*, 43(35), 11331–11343. <https://doi.org/10.1021/BI0493416>
- Swapna, T. H., Papathoti, N. K., Khan, M. Y., Reddy, G., & Hameeda, B. (2016). Bioreduction of Cr (VI) by biosurfactant producing Marine bacterium *Bacillus subtilis* SHB 13. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 75(7), 432–438.
- Théâtre, A., Cano-Prieto, C., Bartolini, M., Laurin, Y., Deleu, M., Niehren, J., Fida, T., Gerbinet, S., Alanjary, M., Medema, M. H., Léonard, A., Lins, L., Arabolaza, A., Gramajo, H., Gross, H., & Jacques, P. (2021). The Surfactin-Like Lipopeptides From *Bacillus* spp.: Natural Biodiversity and Synthetic Biology for a Broader Application Range. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(March). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.623701>
- Tuhuloula, A. (2020). Pemanfaatan Bakteri *Bacillus Cereus* pada Proses Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Metode Slurry Bioreactor. *Journal of Fundamentals and Applications of Chemical Engineering*, 01(02), 39–45.
- Vandana, P., & Singh, D. (2018). Review on Biosurfactant Production and its Application. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(08), 4228–4241. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.443>
- Velmurugan, M., Baskaran, A., Kumar, S. D., Sureka, I., Jennifer Emelda, E. A. R., & Sathiyamurthy, K. (2015). Screening, stability and antibacterial potential of rhamnolipids from *Pseudomonas* sp., isolated from hydrocarbon contaminated soil. *Journal of Applied*

Pharmaceutical Science, 5,(8), 026–033. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50805>

- Vijayakumar, S., Microbiol, V. S.-R. J., & 2015, undefined. (2015). Biosurfactants-types, sources and applications. *Gyansanchay.Csjmu.Ac.InS Vijayakumar, V SaravananRes J Microbiol, 2015•gyansanchay.Csjmu.Ac.In, 10, 181–192.* <https://gyansanchay.csjmu.ac.in/wp-content/uploads/2023/06/Biosurfactants.pdf>
- Waghmode, S., Swami, S., Sarkar, D., Suryavanshi, M., Roachlani, S., Choudhari, P., & Satpute, S. (2020). Exploring the Pharmacological Potentials of Biosurfactant Derived from *Planococcus maritimus* SAMP MCC 3013. *Current Microbiology*, 77(3), 452–459. <https://doi.org/10.1007/S00284-019-01850-1>
- Walker, J. M., & Rapley, R. (2008). Molecular biomethods handbook: Second edition. *Molecular Biomethods Handbook: Second Edition*, 1–1124. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-375-6/COVER>
- Widyastuti, D. A. (2011). *Isolasi DNA Kromosom Salmonella sp . dan Visualisasinya pada Elektroforesis Gel Agarosa.* 311–317.
- Wong, S., & Library, S. (2005). *Dominic W The ABCs of Gene Cloning Second Edition.*
- Yuan, C. L., Xu, Z. Z., Fan, M. X., Liu, H. Y., Xie, Y. H., & Zhu, T. (2014). Study on characteristics and harm of surfactants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(7), 2233–2237. <https://www.jocpr.com/abstract/study-on-characteristics-and-harm-of-surfactants-3651.html>
- Zahra Salsabila, Z., & Saputra, M. A. (2022). Pemeriksaan HBV-DNA real Time Polymerase Chain Reaction (PCR) di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo* , 2(1), 39–44.
- Zhi, Y., Wu, Q., & Xu, Y. (2017). Genome and transcriptome analysis of surfactin biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* MT45. *Scientific Reports*, 7(December 2016), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep40976>

