

**KONSTRUKSI GEN *FENGYCIN* DARI BAKTERI  
*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 PADA PLASMID  
pPICZ $\alpha$**

**SKRIPSI**

**DESTYA OCKTAVIANI  
A182010**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2022**

**KONSTRUKSI GEN *FENGYCIN* DARI BAKTERI  
*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 PADA PLASMID  
pPICZ $\alpha$**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**DESTYA OKTAVIANI  
A182010**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2022**

## LEMBAR PENGESAHAN

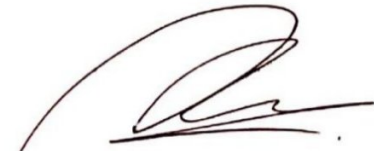
### KONSTRUKSI GEN *FENGYCIN* DARI BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PADA PLASMID pPICZ $\alpha$

DESTYA OCKTAVIANI  
A182010

Oktober 2022

Disetujui Oleh:

Pembimbing



Irma Mardiah, M.Si

Pembimbing



Dr. Erman Tritama, M.Si

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

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk suami tercinta dan kedua orangtua yang selalu memberi dukungan dalam segala hal dan juga selalu berjuang untukku agar bisa mencapai gelar Sarjana Farmasi. Terimakasih untuk suamiku tercinta sudah menjadi suami yang slalu sempurna dan terimakasih juga untuk kedua orangtua yang sudah slalu memberikan yang terbaik untukku. Doa kalian begitu berarti untukku.

## ABSTRAK

Salah satu biosurfaktan golongan lipopeptida yaitu *fengycin*, kelompok lipopeptida termasuk biosurfaktan yang paling populer. *Fengycin* memiliki sifat antijamur yang kuat. *Fengycin* digunakan dalam penelitian ini sebagai gen target dengan mendapatkan urutan asam amino dari PDB, asam amino yang didapat kemudian ditranslasi balik menggunakan *reverse translate* menjadi DNA. Hasil dari translasi balik kemudian dilakukan pengecekan kesesuaian kodon gen *fengycin* tersebut dengan *Pichia pastoris*, karena proses ekspresi akan dilakukan pada inang *Pichia pastoris*. Setelah kodon tersebut sesuai selanjutnya dianalisis enzim restriksi yang ada pada gen target menggunakan *software NEBcutter* dengan tujuan mengetahui enzim restriksi yang dapat memotong suatu DNA target dan analisis enzim restriksi pada plasmid pPICZ $\alpha$  dilakukan menggunakan aplikasi google dengan pencarian peta plasmid pPICZ $\alpha$ . Desain primer dilakukan untuk mengetahui primer *reverse* dan primer *forward* yang akan digunakan dalam penelitian ini. Analisis hasil yang didapat dapat dilihat dari kesesuaian urutan asam amino yang dapat dilihat dari inframe. Hasil dari penelitian ini bahwa gen target *fengycin* dapat diperbanyak dengan menggunakan enzim yang digunakan pada konstruksi gen *fengycin* pada plasmid pPICZ $\alpha$  yaitu EcoRI dan NotI, dengan menggunakan enzim tersebut menyebabkan terligasinya tanpa ada perubahan pada asam amino gen *fengycin* yang dapat diekspresikan pada *Pichia pastoris* dan primer yang digunakan primer *forward* 5'-GAATTCATGGAATTTTGTCAATTTT-3' dan primer *reverse* 5'-TGGCGGCCGCCTCAATGATGATGATGATG-3'.

**Kata Kunci** : *Fengycin*, pPICZ $\alpha$ , lipopeptida, DNA rekombinan.

## ABSTRACT

*One of the biosurfactants of the lipopeptide group is fengycin, the lipopeptide group is the most popular biosurfactant. Fengycin has strong antifungal properties. Fengycin was used in this study as a target gene by obtaining the amino acid sequence from PDB, the amino acid obtained was then reverse translated using reverse translate into DNA. The results of the reverse translation were then checked for the suitability of the codon of the fengycin gene with *Pichia pastoris*, because the expression process will be carried out on the host of *Pichia pastoris*. After the codons are matched, the restriction enzymes present in the target gene are analyzed using NEBcutter software with the aim of knowing the restriction enzymes that can cut a target DNA and analysis of the restriction enzymes on the pPICZ $\alpha$  plasmid was carried out using the google application by searching for the pPICZ $\alpha$  plasmid map. The primary design was carried out to determine the reverse primer and forward primer that will be used in this study. Analysis of the results obtained can be seen from the suitability of the amino acid sequence that can be seen from the inframe. The results of this study were that the fengycin target gene could be propagated by using the enzyme used in the construction of the fenycin gene on the pPICZ $\alpha$  plasmid, namely EcoRI and NotI, using these enzymes to cause ligation without any change in the amino acids of the fengycin gene that could be expressed in *Pichia pastoris* and primers that used a forward primer 5'-GAATTCTACTACCGTCGCGCCAATAC-3' and a reverse primer 5'-GCGGCCGC GCTGCGCTACATTCTCGTTG -3'.*

**Keywords :** *Fengycin, pPICZ $\alpha$ , lipopeptide, recombinant DNA.*

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat segala rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“KONSTRUKSI GEN *FENGYCIN* DARI BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 PADA PLASMID pPICZ $\alpha$ ”**.

Penelitian dan penulisan ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing Irma Mardiah, M.Si dan Dr. Erman Tritama, M.Si yang sudah memberikan bimbingan sebaik-baiknya, memberikan doa dan dukungan yang sangat berarti.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik jika tidak ada dukungan dari berbagai pihak. Dengan kerendahan hati, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si. Selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. apt. Wiwin Winingsig, M.Si. Selaku Kepala Program Studi Sarjana Farmasi.
3. Dr. apt. Diki Prayugo Wibowo, M.Si. Selaku Wakil Ketua 1 Program Studi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
4. Dr. Syarif Hamdani, M.Si. Selaku Dosen Wali yang selalu memberikan dukungan serta motivasi.
5. Seluruh Dosen beserta jajaran Staff Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
6. Randy selaku suami penulis yang sudah berjuang dan selalu memberikan doa serta dukungan.
7. Orang Tua Penulis Bapak Asep Idun dan Ibu Elly Haryani yang sudah berjuang dan selalu memberikan doa serta dukungan.



8. Didit Aditya selaku Kakak Penulis dan Diaz Fadhillah selaku Adik yang sudah memberikan dukungan serta doa.
9. Rekan seperjuangan Angkatan 2018 yang selalu berjuang bersama memberikan dukungan.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis skripsi ini dan umumnya untuk pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Oktober 2022

Destya Ocktaviani

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>KUTIPAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>BAB I      PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Kegunaan Penelitian .....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
<b>BAB II      TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Tinjauan Umum Srfaktan.....	4
2.1.1 Definisi .....	4
2.1.2 Mekanisme kerja .....	4
2.2 Tinjauan Umum Biosurfaktan .....	5
2.2.1 Definisi .....	5
2.2.2 Biosurfaktan Dari Mikroorganisme .....	5
2.2.3 Lipopeptida .....	7

	2.3 Tinjauan Umum Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	8
	2.4 Tinjauan Umum DNA Rekombinan .....	8
	2.5 Tinjauan Umum Enzim Restriksi .....	9
	2.6 Tinjauan Umum Plasmid .....	10
<b>BAB III</b>	<b>TATA KERJA</b> .....	<b>11</b>
	3.1 Alat .....	11
	3.2 Bahan .....	11
	3.3 Metode Penelitian.....	11
	3.3.1 Penyiapan Gen Target .....	11
	3.3.2 Penyiapan Vektor Ekspresi .....	11
	3.3.3 Desain Primer .....	11
	3.3.4 Konstruksi Plasmid .....	11
<b>BAB IV</b>	<b>PEMBAHASAN</b> .....	<b>13</b>
	4.1 Penyiapan Gen Target.....	13
	4.2 Penyiapan Vektor Ekspresi .....	16
	4.3 Desain Primer .....	18
	4.4 Konstruksi Plasmid .....	21
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN ALUR SELANJUTNYA</b> .....	<b>23</b>
	5.1 Kesimpulan .....	23
	5.2 Alur Selanjutnya .....	23
<b>BAB IV</b>	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>24</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Jenis-Jenis Biosurfaktan dan Mikroorganisme Penghasilnya .....	6
4.1 Hasil analisis parameter dari primer <i>forward</i> dan primer <i>reverse</i> .....	19

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Diagram vektor pPICZ $\alpha$ .....	10
4.1 Hasil analisis kesesuaian kodon gen dengan plasmid .....	14
4.2 Hasil kesesuaian kodon 100% .....	15
4.3 Enzim restriksi yang ada pada gen <i>fengycin</i> .....	15
4.4 (a) Peta plasmid pPICZ $\alpha$ , (b) sekuen DNA plasmid pPICZ $\alpha$ .....	16
4.5 Hasil konstruksi gen <i>fengycin</i> pada plasmid pPICZ $\alpha$ .....	21
4.6 Hasil Inframe Pada Plasmid pPICZ $\alpha$ .....	22

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil translasi balik asam amino gen <i>fengycin</i> .....	27
2. Hasil hairpin primer <i>forward</i> dan primer <i>reverse</i> .....	28
3. Hasil <i>self dimer</i> dari primer <i>forward</i> dan primer <i>reverse</i> .....	29
4. Hasil <i>cross dimer</i> dari primer <i>forward</i> dan primer <i>reverse</i> .....	30

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbari, S., Nour, A.H., Yunus, R.M., and Farhan, A.H. 2018. "A Review On Biosurfactants as promising multifunctional agent" *International Journal of Innovative Research and Scientific Studies* 1(1): 1-6.
- Anggela, E.C.C. 2021. "Pencarian Lokasi Gen dan Primer Biosurfaktan Dari Bakteri *Exiguobacterium profundum* dan *Staphylococcus epidermidis* Menggunakan Metode Bioinformatika." *Skripsi*. Jurusan Farmasi. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Apriyani, Nani. 2017. "Penurunan Kadar Surfaktan Dan Sulfat Dalam Limbah Laundry." *Media Ilmiah Teknik Lingkungan* 2(1):37-44.
- Borah, P. 2011. "Primer Design PCR." *Colloquium Faculty Science Vision* 11: 134-136.
- Brown, T.A. 2010. *Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction*. Hongkong: Graphicraft Limited. Hal. 13-17.
- Carolin, C.F., Senthil Kumar, P., Tsopbou Ngueagni, P. 2020. "A Review on New Aspects of Lipopeptide Biosurfactant: Types, Production, Properties, and Its Application in The Bioremediation Process." *Journal of Hazardous Materials* Vol 407. Chennai: Elsevier. P. 124827.
- Charlena, Mas'ud Z.A., Syahreza, A., Purwadayu, A.S. 2009. "Solubility profile of pteroleum waste in water as effect of nonionic surfactant and stirring rate." *Journal of Chemistry Progress* 2(2): 69-78.
- Ciccyliona, D. Y., dan Nawfa, R. 2012. "Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Lokal." *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* 1(1): 1-6.
- Fakruddin, M. 2012. "Biosurfactant: Production and Aplication." *Journal of Pet Environ Biotechnol* 3(4): 1-5.
- Gervajio, G. C. 2005. *Fatty Acids and Derivatives From Coconut Oil*. Bailey's Industrial Oil and Fat Product: John Wiley & Sons Inc.
- Hirma, R.D., Hariyati., Yuniati, A. 2008. "Pemotongan Molekul DNA Menggunakan Enzim Restriksi Endonuklease dan Pengukuran Besarnya Pasangan Basa dari Fragmen yang Terpotong". K04-TD-04.
- Invitrogen. 2006. "A manual of methods for expression of recombinant proteins in *Pichia Pastoris*." California 7-10.
- Jawetz, M., et al. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Jawetz, M., and Aldeberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Koes Irianto. 2017. *Biologi Molekular*. Jakarta: Alfabeta.
- Mani, P., Dineskhumar, G., Deepalakshmi, K., Ganesh Kumar, C., Senthil Balan, S. 2016 “Antimicrobial Activities of A Promising Glycolipid Biosurfactant From A Novel Marine *Staphylococcus saprophyticus* SBPS 15.” *Biotech*, Vol 6. *Springer Nature*. P. 163.
- Naughton, P. J., Marchant, R., Naughton, V., and Banat, I.M. 2019. “Microbial Biosurfactants: Current Trends and Applications in Agricultural and Biomedical Industries.” *Journal of Applied Microbiology* 127: 12-28.
- Pacwa-Plociniczak, M., Plaza, G, A., Piotrowska-Seget, Z., Cameotra, S,S. 2011. “Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances”. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 633-654.
- Putri, M, H., Sukini, Yodong. 2017. *Mikrobiologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Hal. 11.
- Radji, M. 2011. *Rekayasa Genetika: Pengantar Untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta: Sagung Seto.
- Reningtyas, R., and Mahreni, M. 2015. “Biosurfactant.” *Eksergi* 12: 12-22.
- Riffiani, R., dan Sulistianah, N. 2016. “Skrining Awal Bakteri Penghasil Biosurfaktan Yang Diisolasi Dari Waigeo Raja Ampat Papua.” Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Samel, S., *et al.*, 2006. “The Thioesterase Domain of the Fengycin Biosynthesis Cluster: A Structural Base for the Macrocyclization of a Non-Ribosomal Lipopeptide.” *J Mol Biol* 359: 876.
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. 2016. “Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of The 21<sup>st</sup> Century”. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Sasmito, D.E.K., Kurniawan, R., Muhimmah, I. 2014. “Karakteristik Primer Pada Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Sekuensing DNA.” *Mini Review SNIMed* 93-102.



- Sasnaukas, G., *et al.*, 2007. "Site-specific DNA Transesterification Catalyzed By A Restriction Enzyme." *Proc Natl Acad Sci USA* 104(7): 20115-20.
- Silva, R., Almeida, D.G., Rufino, R.D., Luna, J.M., Santos, V.A., and Sarubbo, LA. 2014. "Applications of Biosurfactants in the Petroleum Industry and the Remediation of Oil Spills." *International Journal of Molecular Sciences*.
- Sinila, S. 2016. *Farmasi Fisika*. Jakarta Selatan: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Hal. 30.
- Velmurugan, M., *et al.*, 2015. "Screening, stability and antibacterial potential of rhamnolipids from *Pseudomonas* sp., isolated from hydrocarbon contaminated soil." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 5(08): 026-033.
- Yamin, A. 2012. *Ekstraksi Asbuton Dengan Mikroba (Isolasi Mikroba Asbuton)*. Bandung: Penerbit Informatika. Hal. 41-42.