

**ISOLASI GEN PENGKODE ENZIM *FENGLICIN* DAN *ITURIN*
PADA BAKTERI *Bacillus cereus* SERTA KARAKTERISASI
PRODUK BIOSURFAKTANNYA**

SKRIPSI

**SITI SETIA MELINA
A182029**



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

**ISOLASI GEN PENGKODE ENZIM *FENGLICIN* DAN *ITURIN*
PADA BAKTERI *Bacillus cereus* SERTA KARAKTERISASI
PRODUK BIOSURFAKTANNYA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

SITI SETIA MELINA

A182029



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

**ISOLASI GEN PENGKODE ENZIM *FENGYCIN* DAN *ITURIN* PADA
BAKTERI *Bacillus cereus* SERTA KARAKTERISASI PRODUK
BIOSURFAKTANNYA**

**SITI SETIA MELINA
A 182 029**

Oktober 2022

Disetujui Oleh :

Pembimbing



Irma Mardiah, M.Si

Pembimbing



Umi Baroroh, M.Biotek

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

Alhamdulillah rabbil 'alamin sebagai ungkapan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan berbagai kemudahan dan kepada orang tua yang telah memberikan doa serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi.

ABSTRAK

Biosurfaktan merupakan senyawa permukaan aktif yang berasal dari mikroorganisme yang memiliki sifat *biodegradable*, tidak berbahaya dan menggunakan sumber yang dapat diperbaharui. Salah satu mikroorganisme yang menghasilkan biosurfaktan yaitu bakteri *Bacillus cereus*. Bakteri *Bacillus cereus* berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan golongan lipopeptida. Telah dilakukan penyejajaran gen biosurfaktan jenis *fengycin* dengan persen identity sekitar 80-81%, dan penyejajaran gen *iturin* dengan persen identity sekitar 90.31 %. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi gen pengkode enzim *fengycin* dan *iturin* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) serta karakterisasi produk menggunakan metode *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengetahui golongannya. Hasil spektra IR menunjukkan bahwa biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus cereus* termasuk kedalam golongan lipopeptida siklik. Hasil PCR menunjukkan tidak terdapat fragmen DNA pada gen *fengycin* sedangkan pada gen *iturin* menunjukkan adanya fragmen DNA berukuran < 10kb yang diduga sebagai genom.

Kata kunci : PCR, FTIR, lipopeptida

ABSTRACT

Biosurfactants are surface active compounds derived from microorganisms that have biodegradable properties, are harmless and use sources that can be developed. One of the microorganisms that produce biosurfactants is the bacterium Bacillus cereus. Bacillus cereus bacteria may be a producer of lipopeptide biosurfactants. The alignment of the fengycin type of biosurfactant gene has been carried out with a percent identity of about 80-81%, and the alignment of the iturin gene with a percent identity of about 90.31%. This research was conducted to isolate the fengycin and iturin biosurfactant genes using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method and product characterization using the Fourier Transform Infrared (FTIR) method to determine the group. The results of the IR spectra showed that the biosurfactants produced by Bacillus cereus were included in the cyclic lipopeptide group. The PCR results showed that there were no DNA fragments in the fengycin gene while the iturin gene showed the presence of < 10 kb DNA fragments that were forgotten as genomes.

Keywords: *PCR, FTIR, lipopeptide*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr.wb

Penulis mengucapkan puji syukur kehadiran Ilahi Robbi atas ridho dan Hidayah-Nya serta arahan dari ibu dosen pembimbing alhamdulillah penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi Gen Enzim *Fengicyn* Dan *iturin* Pada Bakteri *Bacillus cereus* Serta Karakterisasi Produk Biosurfaktannya”**

Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus ditempuh untuk mendapatkan gelar sarjana farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada dosen pembimbing ibu Irma Mardiah, M.Si., dan ibu Umi Baroroh, M.Biotek., yang tak pernah lelah membimbing dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Selain itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. apt. Diki Prayugo W., M.Si., selaku Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Kepala Program Studi,
4. Dr. Syarif Hamdani, M.Si., selaku Dosen Wali,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, asisten laboratorium, serta seluruh karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Teman-teman angkatan 2018 yang telah menjadi bagian dari keseharian dan memberikan banyak kenangan serta sharing pengalaman yg sangat bermanfaat.

Dalam penulisan tugas akhir ini tentunya masih banyak kekurangan kearah kesempurnaan karena keterbatasan pengalaman dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik masukan dan saran agar karya ini lebih baik dan sempurna.

Bandung, Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Identifikasi masalah	2
1.3 Tujuan penelitian	2
1.4 Kegunaan penelitian	3
1.5 Waktu dan tempat penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Bioinformatika	4
2.2 Biosurfaktan.....	4
2.2.1 Klasifikasi biosurfaktan	5
2.2.2 Manfaat biosurfaktan dalam bidang farmasi.....	5
2.2.3 Gen <i>fengycin</i>	6
2.2.4 Gen <i>iturin</i>	6
2.3 Bakteri	7
2.3.1 Definisi Bakteri	7
2.3.2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	7
2.4 <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM)	9
2.5 Isolasi DNA	9
2.6 Struktur DNA	10
2.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	10
2.7.1 Denaturasi	11

2.7.2 Annealing	11
2.7.3 Extension.....	12
2.8 Elektroforesis	13
2.9 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	14
BAB 3 TATA KERJA.....	15
3.1 Alat	15
3.2 Bahan	15
3.3 Metode Penelitian	15
3.3.1 Pengumpulan data dan informasi	15
3.3.2 Desain primer gen biosurfaktan	15
3.3.3 Sterilisasi alat bahan dan media	18
3.3.4 Peremajaan isolat bakteri <i>Bacillus cereus</i>	18
3.3.5 Pembuatan media pertumbuhan	18
3.3.6 Isolasi DNA menggunakan metode PCR koloni	18
3.3.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	18
3.3.8 Elektroforesis	19
3.3.9 Karakterisasi produk biosurfaktan	19
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Penyelarasan sekuen	21
4.2 Pasangan primer yang digunakan	24
4.3 Hasil karakterisasi produk biosurfaktan menggunakan FTIR	26
4.4 Hasil amplifikasi dan deteksi gen	27
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	29
6.1 Simpulan	29
6.2 Alur penelitian selanjutnya	29
DAFTAR PUSTAKA	3

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Data primer gen <i>fengycin</i>	16
3.2 Data primer gen <i>iturin</i>	17
4.1 Hasil penyelarasan sekuen nukleotida biosurfaktan gen <i>fengycin</i> dengan bakteri <i>Bacillus cereus</i>	20
4.2 Hasil penyelarasan sekuen nukleotida biosurfaktan gen <i>iturin</i> dengan bakteri <i>Bacillus cereus</i>	21
4.3 Hasil analisis kriteria primer gen <i>fengycin</i> menggunakan <i>oligoanalyzer</i>	22
4.4 Hasil analisis kriteria primer gen <i>iturin</i> menggunakan <i>oligoanalyzer</i>	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur <i>fengycin</i>	6
2.2 Struktur <i>iturin</i>	7
2.3 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	8
4.1 Spektra IR biosurfaktan	25
4.3 Hasil visualisasi gen <i>fengycin</i>	26
4.4. Hasil visualisasi gen <i>iturin</i>	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bioinformatika	33
2. Perhitungan bahan	35
3. Pembuatan media dan sterilisasi.....	36
4. Isolasi dan deteksi gen	37

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, N. 2019. "Potensi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Brevundimonas terrae* Sebagai Penghasil Biosurfaktan". *Skripsi. Jurusan Farmasi. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.*
- Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M.G., Fracchia, L., Smyth, T.J., Marchant, R. 2010. Microbial Biosurfactant Production, Applications and Future Potential, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 87, 427-444
- Bedell, J., I. Korf & M. Yandell. Blast . Sebastopol: O'Reilly Associates, Inc Bushell C. dan Burns M. 2012. Feasibility Study into the Use of DNA Sequencing for The Identification of Probiotic Bacteria. *Journal of the Association of Public Analysis*, 40:28-38
- Boleng, D, T. 2015. Bakteriologi Konsep-konsep Dasar, Malang: Universitas Muhammadiyah Malang. Hal 91-92
- Bordoloi NK dan Konwar BK, 2008. Microbial Surfactant Enhanced Mineral Oil Recovery Under Laboratory Conditions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 63: 73–82.
- Cactano - Anolles. D. 2013. *Polymerase Chain Reaction*, Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition, Elseiver Inc.
- Dale JW dan S.F.Park. 2004. *Molecular genetics of bacteria*. 4th Ed. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- Fatchiyah A, Widyarti dan Rahayu. 2011. *Biologi Molekular : Prinsip Dasar Analisis*. Malang. Erlangga
- Ehtisam, M., Wani, F., Wani, I., Kaur, P. & Nissar, S. 2016. "Polymerase Chain Reaction (PCR) : Back to Basic. " *Indian Journal of Contemporary Dentistry*, 4 (2) : 30.
- Glasset, B., Herbin, S., Granier, S.A., Cavalie, L., Lafeuille, E., Guerin, C., Ruimy, R., Casagrande-Magne, F., Levast, M., Chautemps, N., Decousser, J.-W., Belotti, L., Pelloux, I., Robert, J., Brisabois, A., Ramarao, N., 2018. *Bacillus cereus*, a Serious Cause of Nosocomial Infection : Eoidemiologic and Genetic Survey. *PloS ONE* 13.
- Gozan, M., Fatimah, N.I., Nanda, C., dan Haris, A. 2014. Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi.
- Hamida, F., 2010. Pengaruh Konsentrasi Crude Gliserol (Limbah Biodiesel) Terhadap Pertumbuhan *Lysinibacillus sphaericus* Strain Hytap- B60 dan Indeks Emulsifikasi Biosurfaktan yang Dihasilkannya. *Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta, Hal. 25-54*

- Janda JM, Abbott SI. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in The Diagnostic Laboratory Pulses, Perils, dan Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*. 45 (9): 2761-2764.
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Lakmono, J., Badria Adilina, I., and Egi Agustia, D. 2008." Direct Ethoxylation of Glycerol Mono Oleat from Palm Oil Derivat as a Novel Non-ionic Polymeric Surfactan." *Reaktor* 12(2): 102-106.
- Md, F. 2012. "Biosurfactan: Production and Aplication." *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 03 (04).
- Nitschke M, Ferraz C, dan Pastore GM, 2004. Selection of Microorganisms for Biosurfactant Production Using Agroindustrial Wastes. *Braz. J. Microbiol.* Vol. 35 No. 1–2.
- R. S. and A. P. . Prabhakaran P., Sureshbabu A., "Bioremediation of Crude Oil in Synthetic Mineral Salts Medium Enriched With Aerobic Bacterial Consortium," *Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol.*, vol. 3, no. 2, 2014.
- Plaza, G., Chojniak, J., Rudnicka, K., Paraszkiwicz, K. & Bernat, P. 2015. "Detection of biosurfaktan in *Bacillus* species : Genes and products identification. " *Journal of Applied Microbiology*, 119 (4) : 1023 – 1034.
- Putra, S.A.P., 2018. Peran Biosurfaktan dari Proses Composting untuk Desorpsi Hidrokarbon pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi. Skripsi. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November. Hal. 17 – 80.
- Putri, M., Sukini, Yodong, 2017. Bahan AJAR Keperawatan Gigi Mikrobiologi. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Reningtyas, R., Mahreni, M., 2015. *Biosurfactant*. Eksergi 12, 12- 22
- Sankari et al, 2010. Analysis of serum immunoglobulins using Fourier Transform Infrared spectral measurements.
- Sasongko AP, 2003. Ekstraksi dan Karakterisasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3Kp pada Molase, Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Sasmito, D.2014. Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Sastrohamidjojo, H. (1994). *Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti* (Nuclear Magnetic Resonance, NMR).Yogyakarta: Liberty.
- Sekhar, S., Sundaeamanickam, A. & Balasubramanian, T. 2015. " Biosurfactant

producing microbes and their potential applications: A review.” *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45 (14) : 1522 – 1554.

Singh, V., 2012. Biosurfactant-Isolation, Production, Purification and Significance. *Int. J. Sci. Res. Publ.* 2.

Wati, D. 2021. “Pencarian Lokasi dan Desain Primer Gen Biosurfaktan Pada Bakteri *Bacillus cereus* dan *Brevundimonas spp.* Menggunakan Metode Bioinformatika”. *Skripsi* jurusan Farmasi. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Williams, K.L. 2018. “ Gene mapping.” *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: ABC of Bioinformatic*, 1 – 3 : 242-251

Zhu, Z., Zhang, B., Chen, B., Ling, J., Cai, Q., dan Husain, T. 2019. *Fly ash based robust biocatalyst generation: a sustainable strategy towards enhanced green biosurfactant production and waste utilization*