

**OPTIMASI PARAMETER *POLYMERASE CHAIN REACTION*  
(PCR) KOLONI *Bordetella pertussis* pelita III TERHADAP  
ANTIGEN *PERTACTIN* DAN *FIMBRIAE***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**VIKTORIA BUBU  
A161072**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2020**

**OPTIMASI PARAMETER *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)  
KOLONI *Bordetella pertussis* pelita III TERHADAP ANTIGEN  
*PERTACTIN* DAN *FIMBRIAE***

**VIKTORIA BUBU  
A161072**

September 2020

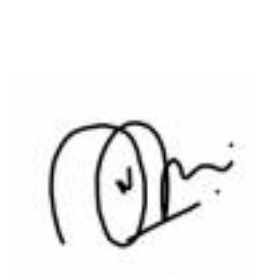
Disetujui oleh :

Pembimbing



Dr. Erman Tritama, S.Si., M.Si

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si

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

*Skripsi ini dipersembahkan untuk orangtua, adik-adik, keluarga besar dan sahabat-sahabat saya yang selalu memberikan dukungan dan doa.*

## ABSTRAK

Pertusis adalah infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh bakteri *Bordetella pertussis*. Vaksinasi dapat memberikan perlindungan terhadap bakteri pertusis. Vaksinasi pertussis dapat dilakukan dengan vaksin *acellular pertussis* yang didalamnya mengandung antigen *pertactin* dan *fimbriae*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan parameter yang optimum dalam mengamplifikasi antigen *pertactin* dan *fimbriae* pada bakteri *Bordetella pertussis* pelita III. Metode penelitian diawali dengan mengisolasi bakteri dengan menggunakan teknik *boiling*, kemudian dilakukan analisis primer dan proses amplifikasi dengan variasi suhu *annealing* pada antigen *pertactin* (56°C, 58°C, 60°C, 62°C, 64°C, 66°C, dan 68°C) dan pada antigen *fimbriae* (57°C, 59°C, 61°C, 63°C, 65°C, dan 67°C). Untuk antigen *fimbriae* dilakukan pula variasi komponen MgCl<sub>2</sub> (1 mM; 1,25 mM; 1,5 mM; 1,75 mM; 2 mM MgCl<sub>2</sub> dan tanpa MgCl<sub>2</sub>). Hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa dengan mengamati pita yang muncul dibawah lampu UV. Hasil penelitian pada antigen *pertactin*, pada suhu 58°C, 62°C, 64°C, dan 66°C tidak menunjukkan hasil spesifik ditandai dengan munculnya dua pita, pada suhu 60°C tidak terdapat pita yang muncul, pada suhu 56°C terdapat satu pita berukuran 600 bp dan pada suhu 68°C terdapat satu pita spesifik dengan panjang mendekati 1000 bp (ukuran *pertactin* yaitu 975 bp). Sedangkan pada *fimbriae*, baik pada variasi suhu maupun variasi konsentrasi MgCl<sub>2</sub>, tidak terdapat pita yang menunjukkan adanya *fimbriae* (1422 bp). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *pertactin* dapat diamplifikasi secara optimal pada suhu 68°C, sedangkan pada antigen *fimbriae*, tidak dihasilkan pita PCR dapat disebabkan oleh primer yang tidak spesifik.

**Kata Kunci :** *Bordetella pertussis* pelita III, analisis primer, optimasi PCR, antigen *pertactin*, antigen *fimbriae*.

## **ABSTRACT**

*Pertussis is a respiratory infection caused by the Bordetella pertussis bacteria. Vaccination can protect against pertussis bacteria. Pertussis vaccination can be done with the acellular pertussis vaccine which contains pertactin and fimbriae antigens. This study aims to determine the optimum parameters for amplifying pertactin and fimbriae antigens in Bordetella pertussis pelita III bacteria. The research method was initiated by isolating the bacteria using the boiling technique, then the primary analysis and amplification process was carried out with annealing temperature variations on the pertactin antigen (56 °C, 58 °C, 60 °C, 62 °C, 64 °C, 66 °C, and 68 °C) and the fimbriae antigen (57 °C, 59 °C, 61 °C, 63 °C, 65 °C, and 67 °C). For the fimbriae antigen, variations of the MgCl<sub>2</sub> component were also carried out (1 mM; 1.25 mM; 1.5 mM; 1.75 mM; 2 mM MgCl<sub>2</sub> and without MgCl<sub>2</sub>). The amplification results were analyzed by agarose gel electrophoresis by observing the bands that appeared under a UV lamp. The results of the research on pertactin antigen, at 58 °C, 62 °C, 64 °C, and 66 °C did not show specific results indicated by the appearance of two bands, at 60 °C no band appeared, at 56 °C there was one band measuring 600 bp and at 68 °C there was one specific band with a length approaching 1000 bp (pertactin size is 975 bp). Whereas in fimbriae, both at variations in temperature and variations in the concentration of MgCl<sub>2</sub>, there was no band indicating the presence of fimbriae (1422 bp). The results of this study indicate that pertactin can be amplified optimally at 68 °C, while the fimbriae antigen does not produce PCR bands which can be caused by non-specific primers.*

**Keywords** : *Bordetella pertussis pelita III, primer analyze, PCR Optimization, antigen pertactin, antigen fimbriae.*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**Optimasi Parameter *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Koloni *Bordetella pertussis* pelita III Terhadap Antigen *Pertactin* dan *Fimbriae*”.**

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

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing bapak Dr. Erman Tritama, S.Si., M.Si dan ibu Nur Asni Setiani, M.Si atas bimbingan, nasihat, dukungan serta pengorbanan yang diberikan kepada penulis. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Adang Firmansyah, M.Si., Apt., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Revika Rachmaniar, M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
3. Nur Asni Setiani, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
4. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
5. PT. Biofarma yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengerjakan penelitian ini,
6. Bapak Yusuf, Ibu Elny dan Ibu Annisa, yang telah membimbing penulis selama melakukan penelitian,
7. Orang tua dan kedua adik penulis yang selalu memberikan dukungan dan doa,
8. Teman-teman kelas Reguler Pagi B yang menemani dan membantu penulis selama masa kuliah,

9. Sahabat-sahabat penulis yang selalu memberikan saran dan semangat kepada penulis.

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

Bandung, September 2020

Penulis



## 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><i>ABSTRACT</i>.....</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 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Bordetella pertussis</i> .....	4
2.1.1 <i>Pertactin</i> (Prn).....	5
2.1.2 <i>Fimbriae</i> (Fim).....	6
2.2 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	7
2.2.1 Tahapan Proses PCR.....	7
2.2.2 Komponen-Komponen PCR.....	8
2.3 Elektroforesis Gel.....	11

<b>BAB III TATA KERJA.....</b>	<b>13</b>
3.1 Alat.....	13
3.2 Bahan.....	13
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.3.1 Isolasi Koloni Bakteri <i>Bordetella pertussis</i> pelita III.....	13
3.3.2 Pengujian dengan PCR.....	14
3.3.3 Elektroforesis Gel.....	15
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>17</b>
4.1 Isolasi Koloni <i>Bordetella pertussis</i> pelita III.....	17
4.2 Analisis Primer.....	17
4.2.1 Primer <i>Fimbriae</i> .....	18
4.2.2 Interaksi Primer <i>Fimbriae</i> .....	19
4.2.3 Hasil Analisis <i>Blast</i> Primer <i>Fimbriae</i> .....	22
4.2.4 Primer <i>Pertactin</i> .....	22
4.2.5 Interaksi Primer <i>Pertactin</i> .....	23
4.2.6 Hasil Analisis <i>Blast</i> Primer <i>Pertactin</i> .....	26
4.2 Pengujian Dengan PCR.....	27
4.3 Hasil Amplifikasi.....	27
<b>BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....</b>	<b>33</b>
5.1 Simpulan.....	33
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>37</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Primer Antigen <i>Pertactin</i> dan <i>Fimbriae</i> .....	14
3.2 Komponen PCR Sampel <i>Pertactin</i> dan <i>Fimbriae</i> Pada Uji Variasi Suhu <i>Annealing</i> .....	14
3.3 Komponen PCR Sampel <i>Fimbriae</i> Pada Uji Variasi Mgcl <sub>2</sub> .....	15
3.4 Siklus PCR Sampel Sampel <i>Pertactin</i> (Prn) dan <i>Fimbriae</i> (Fim).....	15
4.1 Hasil Analisis Data <i>Forward</i> dan <i>Reverse Primer Fimbriae</i> .....	18
4.2 Hasil Analisis <i>Hairpin Forward</i> dan <i>Reverse Primer Fimbriae</i> .....	19
4.3 Hasil Analisis <i>Self Dimer Forward</i> dan <i>Reverse Primer Fimbriae</i> .....	20
4.4 Hasil Analisis <i>Cross dimer Forward</i> dan <i>Reverse Primer Fimbriae</i> .....	21
4.5 Hasil Analisis Data <i>Forward</i> dan <i>Reverse Primer Pertactin</i> .....	22
4.6 Hasil Analisis <i>Hairpin Forward</i> dan <i>Reverse Primer Pertactin</i> .....	23
4.7 Hasil Analisis <i>Self Dimer Forward</i> dan <i>Reverse Primer Pertactin</i> .....	24
4.8 Hasil Analisis <i>Cross Dimer Forward</i> dan <i>Reverse Primer Pertactin</i> .....	25
4.9 Rangkuman Hasil Interaksi Primer <i>Fimbriae</i> dan <i>Pertactin</i> .....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bentuk bakteri <i>Bordetella pertussis</i> <sup>1</sup> dan bagian-bagian faktor virulensi <i>Bordetella pertussis</i> .....	4
4.1 Ikatan pasang basa (a) <i>forward primer</i> dan (b) <i>reverse primer fimbriae</i> dengan <i>template</i> DNA.....	22
4.2 Ikatan pasang basa (a) <i>forward primer</i> dan (b) <i>reverse primer pertactin</i> dengan <i>template</i> DNA.....	26
4.3 Hasil elektroforesis <i>pertactin</i> suhu 62°C.....	28
4.4 Hasil elektroforesis antigen <i>pertactin</i> dengan variasi suhu <i>annealing</i> .....	29
4.5 Hasil amplifikasi antigen <i>fimbriae</i> dengan (a) variasi suhu dan (b) dengan variasi MgCl <sub>2</sub> .....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Uji Antigen <i>Pertactin</i> Dengan Variasi Suhu 56°C, 58°C, 60°C, 64°C, 66°C, 68°C) Menggunakan <i>Template</i> Berbeda.....	37
2. Pengenceran TAE 10x.....	38
3. Kit PCR.....	38
4. Proses Amplifikasi Pada Alat PCR.....	38
5. Komponen Elektroforesis.....	39

## DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, Ristieyen, R., dan Tadjuddin N. 2019. "Analisis Cemaran DNA Tikus pada Bakso Daging Sapi yang Beredar di Makassar dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)". *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)* 2019; 5 (1): 93 - 100.
- Asy'ari, M., dan Saifuddin, N. 2005. "Optimasi Konsentrasi MgCl<sub>2</sub> Dan Suhu Annealing Pada Proses Amplifikasi Multifragmens mtDNA Dengan Metoda PCR". *J. Kim. Sains & Apl.* Vol. VIII. No.1:23-27.
- Efendi, Y.S., Dwi, S., Eman, T., Michelle, L.P., Gilang, N.P., Sugeng, R., Iskandar, Pinkan, A., Ernawati, A.G., Biswarup, M., Endang, P. 2017. "Complete Genome Sequence of Bordetella pertussis Pelita III, the Production Strain for an Indonesian Whole-Cell Pertussis Vaccine." *Genome Announcements* (5): 1-2.
- Englan, M.D. dan Kelley, L.C. 2000. *A rapid DNA isolation procedure for the identification of Campylobacter jejuni by the polymerase chain reaction.* USA : Society for Applied Microbiology. P. 421.
- Faatih, M. 2009. "Isolasi Dan Digesti DNA Kromosom Isolation And Digestion Of Chromosomal DNA". *urnal Penelitian Sains & Teknologi*, Vol. 10, No. 1, 2009: 61 - 67.
- Gabutti, G., Chiara, A., Paolo, B., Rosa, P., Alberto, E.T., Alessandro, Z., and Gianvincenzo, Z. 2015. "Pertussis Current perspectives on epidemiology and prevention". *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 11:1, 108–117
- Gorringe, A., and Thomas, V. 2014. "Bordetella pertussis fimbriae (fim): relevance for vaccine". *Public Health England, Porton Down, Salisbury SP4 0JG, UK; Expert Rev. Vaccines* 13(10), 1205–1214 (2014).
- IDT. 2019. *Oligo Analyzer*. Doi : FM 88954/FM 513 29. P. 1.
- Kilgore, P. E., Abdulbaset, M.S., Marcus, J.Z., and Heinz-Josef, S. 2016. "Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention". *American Society for Microbiology* 29:3, 449-486.
- Liana, H. A. 2017. "Isolasi DNA *Chlorella* sp. Dengan Metode CTAB dan Identifikasi Sikuen 18S rDNA". *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim. Hal. 14-15.
- Ludyasari, A. 2014. "Pengaruh Suhu Annealing Pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Laguna Sagara Anakan Cilacap Jawa Tengah". *Skripsi*. Jurusan Biologi. Malang: Universitas Islam Negeri. Hal. 23.

- Loftus, K. 2018. "Evolution of *Bordetella pertussis* genome may play a role in the increased rate of whooping cough cases in the United States". *Bordetella Research Day in Baltimore Maryland on April 6th 2018 and the ISAT Senior Symposium in Harrisonburg Virginia on April 20th 2018*. P.4
- Melvin, J.A., Erich, V.S., Jeff, F.M., and Peggy, A.C. 2014. "Bordetella pertussis pathogenesis: current and future challenge". *Nat Rev Microbiol*.2014 April; 12(4): 274–288. doi:10.1038/nrmicro3235.
- NEB. 2019. Instruction Manual Taq PCR Kit. Doi : 01938-2723. P. 1.
- Otsuka, N., Hyun-Ja, H., Hiromi, T., Yukitsugu, N., Yoshichika, A., Keigo, S., and Kazunari, K. 2012."Prevalence and Genetic Characterization of Pertactin Deficient *Bordetella pertussis* in Japan". *Plos One*, February 2012, Volume 7, Issue 2, e31985.P. 1.
- Sariadji, K., Aulia, R., Sunarno, Nelly, P., Faika, R., Fauzul, M., Khariri, Bambang, H., Rudi, H.P. 2016. "Studi Kasus Bordetella Pertussis pada Kejadian Luar Biasa di Kabupaten Kapuas Kalimantan Tengah yang Dideteksi dengan PCR". *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol.5.1.2016: 51-56.
- Sasmito, D.E.K., Rahadian, K., dan Izzati, M. 2014. "Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review". *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V 2014, 6 Desember 2014, Magister Teknik Informatika, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia*. Hal 93-99.
- Scheller and gotter. 2015."Bordetella filamentous hemagglutinin and fimbriae: critical adhesins with unrealized vaccine potential". *FEMS Pathogens and Disease*, 2015, Vol. 73, No. 8.
- Shafique, S. 2012. *Polimerase Chain Reaction*. German: Lap Lambert Academic Publishing. P.14-17.
- Sunarno., Fauzul, M., Nyoman, F., Amarila, M., Anis, K., dan Amin, S. 2014. "Metode Cepat Ekstraksi Dna *Corynebacterium diphtheriae* Untuk Pemeriksaan PCR". *Bul. Penelit. Kesehat*, Vol. 42, No. 2, Juni 2014: 85 - 92.
- Utami, S.T., Diah, F.K., dan Hendro, P. 2013. "Pemeriksaan *Leptospira* Pada Sampel Darah Manusia Suspect Leptospirosis Menggunakan Metode PCR (Polimerase Chain Reaction)". *BALABA* Vol. 9, No. 02, Desember 2013:74-81.
- World Health Organization. 2014. *Information Sheet: Observed Rate Of vaccine Reactions Diphtheria, Pertussis, Tetanus vaccine*. Switzerland: Global Vaccine Safety Essensial Medicines and Health Product.

Yusuf, Z.K. 2010. "Polymerase Chain Reaction". *Saintek* 5(6):1-2.