

**OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN *FENGYCIN*  
DAN *ITURIN* DENGAN METODE PCR PADA BAKTERI  
*Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

**NATASYA MUSTIKA SANJAYA  
A 201 083**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2024**

**OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN *FENGYCIN*  
DAN *ITURIN* DENGAN METODE PCR PADA BAKTERI  
*Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**NATASYA MUSTIKA SANJAYA  
A 201 083**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2024**

**OPTIMASI SUHU PENEMPELAN PRIMER GEN *FENGYCIN*  
DAN *ITURIN* DENGAN METODE PCR PADA BAKTERI  
*Bacillus cereus***

**NATASYA MUSTIKA SANJAYA  
A201083**

Oktober 2024

Disetujui oleh:

Pembimbing



Irma Mardiah, 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 adalah persembahan kepada Mama dan Papa serta keluarga yang selalu memberikan kasih sayang, doa, semangat dan dukungan tanpa henti.

## ABSTRAK

Surfaktan sintetis banyak digunakan dalam berbagai industri, tetapi dampaknya terhadap lingkungan menjadi perhatian. Biosurfaktan, seperti yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus*, menjadi alternatif yang lebih ramah lingkungan. Gen *fengycin* dan *iturin* pada *Bacillus cereus* diketahui terkait dengan produksi biosurfaktan. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi suhu penempelan primer untuk amplifikasi gen *fengycin* dan *iturin* menggunakan metode PCR. Metode penelitian dilakukan melalui optimasi suhu penempelan dengan lima pasangan primer untuk gen *fengycin* dan tujuh pasangan primer untuk gen *iturin*. Proses amplifikasi menggunakan PCR dengan variasi suhu penempelan antara 50-63°C, kemudian hasil visualisasi dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *fengycin* tidak berhasil diamplifikasi pada semua suhu penempelan yang diuji. Sementara itu, gen *iturin* berhasil diamplifikasi pada suhu penempelan 50°C untuk primer SrfA3 dan SrfB4, serta 49°C untuk primer SrfB1, dengan ukuran pita 0,06 kb. Suhu penempelan optimal untuk amplifikasi gen *iturin* adalah 49-50°C, sedangkan optimasi lebih lanjut diperlukan untuk amplifikasi gen *fengycin*.

**Kata Kunci:** PCR, suhu penempelan, *Bacillus cereus*, gen *fengycin*, gen *iturin*.

## ABSTRACT

*Synthetic surfactants are widely used in various industries, but their impact on the environment is a concern. Biosurfactants, such as those produced by Bacillus cereus, are a more environmentally friendly alternative. fengycin and iturin genes in Bacillus cereus are known to be associated with biosurfactant production. This study aims to optimize the primer attachment temperature for the amplification of fengycin and iturin genes using PCR method. The research method was carried out through optimization of attachment temperature with five primer pairs for the fengycin gene and seven primer pairs for the iturin gene. The amplification process used PCR with variations in attachment temperature between 50-63°C, then the visualization results were carried out by agarose gel electrophoresis. The results showed that the fengycin gene was not successfully amplified at all tested attachment temperatures. Meanwhile, the iturin gene was successfully amplified at 50°C for SrfA3 and SrfB4 primers, and 49°C for SrfB1 primers, with a band size of 0,06 kb. The optimal attachment temperature for Iturin gene amplification is 49-50°C, while further optimization is needed for fengycin gene amplification.*

**Keywords:** *PCR, annealing temperature, Bacillus cereus, Fengycin gene, Iturin gene.*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “**Optimasi Suhu Penempelan Primer Gen Fengycin dan Iturin dengan Metode PCR pada Bakteri *Bacillus cereus***”.

Penelitian serta penyusunan skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Irma Mardiah, M.Si, dan Nur Asni Setiani, M, Si selaku dosen pembimbing yang senantiasa sabar dalam membimbing, memberi nasihat, dorongan serta pengarahan pelaksanaan penelitian hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik.
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi.
4. Pupung Ismayadi, S.T.M.M., selaku dosen wali yang telah banyak membimbing, memberi arahan dan juga nasihat selama melaksanakan perkuliahan.
5. Seluruh dosen, staff administrasi serta seluruh karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia atas ilmu, pengalaman dan bantuan kepada penulis selama penelitian.
6. Kepada Papa dan Mama yang senantiasa, memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis hingga berada di titik ini.
7. Grace, Tasya, Jeje, Cowen, Elven, Jose, Darma, Calvin, Bert, yang telah menemani, memberikan *support* dan dukungannya kepada penulis
8. Teman-teman seperjuangan yang telah memberikan inspirasi dan semangat selama penelitian.
9. Seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih harus disempurnakan karena kekurangan dan kesalahan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan di masa mendatang.



Bandung, Oktober 2024  
Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
KUTIPAN .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
<i>ABSTRACT</i> .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	12
1.1 Latar Belakang.....	12
1.2 Identifikasi Masalah.....	13
1.3 Tujuan Penelitian .....	13
1.4 Kegunaan Penelitian .....	13
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	13
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	14
2.1 Biosurfaktan.....	14
2.2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	15
2.3 Gen <i>Fengycin</i> dan <i>Iturin</i> .....	16
2.4 Isolasi DNA .....	17
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	18
2.6 Elektroforesis.....	19
BAB III TATA KERJA .....	21
3.1 Alat .....	21
3.2 Bahan.....	21
3.3 Metode Penelitian .....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	26
BAB V KESIMPULAN.....	38
DAFTAR PUSTAKA .....	39
LAMPIRAN.....	43

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Data Gen <i>Fengycin</i> .....	23
3.2 Data Gen <i>Iturin</i> .....	24
4.1 Data Gen <i>Fengycin</i> .....	31
4.2 Data Gen <i>Iturin</i> .....	34

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	15
2.2 Konteks Genomik Gen <i>Fengycin</i> .....	16
2.3 (a) Struktur Gen <i>Iturin</i> , (b) Urutan Basa DNA Gen <i>Iturin</i> (c) lokasi dan Panjang Gen <i>Iturin</i> .....	17
4.1 Grafik Kurva Baku Nilai OD terhadap TPC.....	26
4.2 Hasil Visualisasi DNA.....	28
4.3 Proses <i>Running</i> PCR.....	30
4.4 Hasil Visualisasi Gen <i>Fengycin</i> .....	30
4.5 Hasil Visualisasi Gen <i>Iturin</i> .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Media <i>Nutrient Agar</i> .....	43
2. Perhitungan Media <i>Nutrient Broth</i> .....	43
3. Perhitungan TAE .....	43
4. Perhitungan ALT .....	43
5. Hasil <i>Total Plate Count</i> Nilai OD.....	44
6. Sterilisasi alat dan media.....	45
7. Pembuatan Media.....	45
8. Kultur Bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	45
9. Isolasi DNA .....	46
10. PCR.....	47
11. Elektroforesis .....	47

## DAFTAR PUSTAKA

- Abriyanto, F. (2023). Efektivitas Kondisi Suhu *Annealing* PCR Gen *Fengycin* dan *Iturin* pada Bakteri *Bacillus cereus*.
- Amanda, K., Sari, R., & Apridamayanti, P. (n.d.). Optimasi Suhu *Annealing* Proses PCR Amplifikasi Gen shv Bakteri *Escherichia coli* Pasien Ulkus Diabetik.
- Arora, P. K. (2020). *Bacilli-Mediated Degradation of Xenobiotic Compounds and Heavy Metals*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8 (October), 1–28. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.570307>
- Artati, D., Dini, D., & Lubis, S. (2017). Optimasi Performa DNA Marker pada Elektroforesis Gel. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 15(2), 47–50.
- Buckley, K., & Grotticelli, J. (2023). *Bacillus Cereus*. *Encyclopedia of Toxicology, Fourth Edition: Volume 1-9, 1*, V1-889-V1-892. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00374-2>
- Budiharjo, H., Pamungkas, J., Gusmawarni, S. R., & Perwira, K. Y. (2019). Uji Laboratorium Efektivitas Biosurfaktan “U-Champ” dalam Bioremediasi Oil Spill. *Jurnal Mineral, Energi, Dan Lingkungan*, 3(2), 101. <https://doi.org/10.31315/jmel.v3i2.2992>
- Carriço, J. A., Sabat, A. J., Friedrich, A. W., & Ramirez, M. (2013). *Bioinformatics in bacterial molecular epidemiology and public health: Databases, tools and the next-generation sequencing revolution*. *Eurosurveillance*, 18(4), 1–8. <https://doi.org/10.2807/ese.18.04.20382-en>
- Disha.S.Sansarode, & Dr Sangeeta Sahasrabudhe. (2018). *Biosurfactant: Classification, Properties and Recent Application in Cosmetic*. 5(10), 160–167.
- DNA amplification (PCR) – Fatchiyah - Molecular Genetics*. (n.d.). Retrieved September 23, 2024, from <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/bbbb/>
- Handayani, S. O., & Putri, D. H. (2021). Perbandingan Metode Fenol-Kloroform dan *Mini-Prep CTAB* Untuk Isolasi DNA Tanaman Cabai (*Capsicum annum L.*). *Serambi Biologi*, 6(2), 37–41.
- Handoyo, D., & Rudiretna, A. (2001). Prinsip umum dan pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas*, 9(1), 17–29.
- 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>
- Hasibuan, E. (2015). Karya tulis ilmiah ini telah disetujui oleh Kepala Laboratorium Terpadu Kultur Sel dan Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Disetujui Oleh Kepala Laboratorium Terpadu Kultur Sel Dan Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, 1–17.
- Johnson, P., Trybala, A., Starov, V., & Pinfield, V. J. (2021). *Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants*. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 288). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102340>
- Kamallia, S., Hasbi, M., & Budijono, B. (2021). *Isolation and Identification of Biosurfactant Producing Bacteria from Tofu Liquid Waste* UD. Dika Putra,

- Riau Province. *Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(1), 16.  
<https://doi.org/10.31258/jipas.9.1.p.16-22>
- Kubicki, S., Bollinger, A., Katzke, N., Jaeger, K. E., Loeschcke, A., & Thies, S. (2019). *Marine biosurfactants: biosynthesis, structural diversity and biotechnological applications*. *Marine Drugs*, 17(7), 1–30.  
<https://doi.org/10.3390/md17070408>
- Kumar, A., Singh, S. K., Kant, C., Verma, H., Kumar, D., Singh, P. P., Modi, A., Droby, S., Kesawat, M. S., Alavilli, H., Bhatia, S. K., Saratale, G. D., Saratale, R. G., Chung, S. M., & Kumar, M. (2021). *Microbial biosurfactant: A new frontier for sustainable agriculture and pharmaceutical industries*. *Antioxidants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/antiox10091472>
- Langga, I. F., & Kuswinanti, T. (2012). Tanaman Bitti (*Vitex cofassus Reinw*) Serta Analisis Keragaman Genetik dengan Teknik RAPD-PCR *Optimization of Temperature and Length of Incubation in Extracting Bitti Plant (Vitex cofassus Reinw.) DNA and Genetic Variety Analysis with RAPD-PCR*. *J. Sains & Teknologi, Desember*, 12(3), 265–276.
- Li, J., Wu, X., & Meng, J. (2024). *Complete genome sequence of Bacillus cereus A01*. *Microbiology Resource Announcements*, 13(6).  
<https://doi.org/10.1128/MRA.01241-23>
- Lu, H., Xu, H., Yang, P., Bilal, M., Zhu, S., Zhong, M., Zhao, L., Gu, C., Liu, S., Zhao, Y., & Geng, C. (2022). *Transcriptome Analysis of Bacillus amyloliquefaciens Reveals Fructose Addition Effects on Fengycin Synthesis*. *Genes*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/genes13060984>
- Lucidi, M., Marsan, M., Pudda, F., Pirolo, M., Frangipani, E., Visca, P., & Cincotti, G. (2019). *Geometrical-optics approach to measure the optical density of bacterial cultures using a LED-based photometer*. *Biomedical Optics Express*, 10(11), 5600. <https://doi.org/10.1364/boe.10.005600>
- Mcdowell, R. H., Sands, E. M., & Friedman, H. (2023). *Bacillus Cereus Pathophysiology*. 1–6.
- Merdekawati, F., & Nurhayati, B. (2023). *Desain Primer Gen Pengkode RNA Dependent RNA Polimerase (RDRP) Untuk Deteksi SARS COV2 Dengan Menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1), 30–36.  
<https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i1.2179>
- Meyers, A., Furtmann, C., & Jose, J. (2018). *Direct optical density determination of bacterial cultures in microplates for high-throughput screening applications*. *Enzyme and Microbial Technology*, 118(April), 1–5.  
<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.06.016>
- Mira, P., Yeh, P., & Hall, B. G. (2022). *Estimating microbial population data from optical density*. *PLoS ONE*, 17(10 October), 1–8.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276040>
- MN006821.1: Bacillus subtilis subsp. subtilis strain IPA14 iturin gene, partial cds*. (n.d.). Retrieved January 19, 2024, from  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN006821.1?report=graph>
- Mongkolthanaruk, W. (2012). *Classification of bacillus beneficial substances related to plants, humans and animals*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(12), 1597–1604. <https://doi.org/10.4014/jmb.1204.04013>

- NCBI. (2023). *fenB fengycin non-ribosomal peptide synthetase*.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/76982606>
- Numbers, C., Presto, T., Control, Q., & Number, C. (2008). *Presto™ cfDNA / RNA Extraction Kit*. 5–6.
- Pambudiono, A., Suarsini, E., Isolasi, M. A., Genom, D., Potensial, B., Logam, P., Kadmium, B., Cair, L., Agar, P., & Amin, M. (2016). Isolasi DNA Genom Bakteri Potensial Pengkelat Logam Berat Kadmium Dari Limbah Cair Penepungan Agar. In *Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek*.
- Peng, W., Zhong, J., Yang, J., Ren, Y., Xu, T., Xiao, S., Zhou, J., & Tan, H. (2014). *The artificial neural network approach based on uniform design to optimize the fed-batch fermentation condition: Application to the production of iturin A. Microbial Cell Factories, 13*(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-54>
- Pertiwi, N. P. D., Mahardika, I. G. N. K., & 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>
- Putri, A. A., Ahda, Y., Putri, D. H., Achyar, A., & Metode, B. (2023). *Optimization of Pathogenic Bacterial DNA Isolation in PCR- Based River Water Samples Optimasi Isolasi DNA Bakteri Patogen pada Sampel Air Sungai Berbasis PCR. 8*(3), 471–475.
- Rahmawati Amalia Yunia. (2020). Disinfektan Surfaktan. *July*, 1–23.
- Reningtyas, R. (2015). *Biosurfaktan Biosurfactant: Vol. XII* (Issue 2).
- Rohmana, A., Fuad, M., Ulfan, I., Kurniawan, F., & Kimia, J. (2016). Penggunaan Agar-agar Komersial sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media (Vol. 5, Issue 2).
- Schneider, K. R., Goodrich Schneider, R., Silverberg, R., Kurdmongkoltham, P., & Bertoldi, B. (2017). *Preventing Foodborne Illness: Bacillus cereus. Edis, 2017*(2), 6. <https://doi.org/10.32473/edis-fs269-2017>
- Seniati, M. dan A. I. (2019). Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Cepat Dengan Menggunakan *Spectrofotometer Measurement Standard of Population Density of Vibrio harveyi Using Methods of Plate Count (TPC) and Spectrophotometer*.
- Tamam, B. (2012). Pengertian dan Cara Kerja Elektroforesis - Generasi Biologi. <https://generasibiologi.com/2012/08/elektroforesis.html>
- Troubleshooting primer dimer in PCR – miniPCR bio.* (n.d.). Retrieved October 18, 2024, from <https://www.minipcr.com/primer-dimer-pcr/>
- Wan, C., Fan, X., Lou, Z., Wang, H., Olatunde, A., & Rengasamy, K. R. R. (2022). *Iturin: cyclic lipopeptide with multifunction biological potential. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62*(29), 7976–7988. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1922355>
- Yaraguppi, D. A., Bagewadi, Z. K., Patil, N. R., & Mantri, N. (2023a). *Iturin: A Promising Cyclic Lipopeptide with Diverse Applications. In Biomolecules*



- (Vol. 13, Issue 10). *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* (MDPI).  
<https://doi.org/10.3390/biom13101515>
- Yaraguppi, D. A., Bagewadi, Z. K., Patil, N. R., & Mantri, N. (2023b). *Iturin: A Promising Cyclic Lipopeptide with Diverse Applications*. In *Biomolecules* (Vol. 13, Issue 10). *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* (MDPI).  
<https://doi.org/10.3390/biom13101515>
- Yaseen, Y., Gancel, F., Drider, D., Béchet, M., & Jacques, P. (2016). *Influence of promoters on the production of fengycin in Bacillus spp.* *Research in Microbiology*, 167(4), 272–281. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.01.008>
- Yasmin, A., Aslam, F., & Fariq, A. (2022). *Genetic Evidences of Biosurfactant Production in Two Bacillus subtilis Strains MB415 and MB418 Isolated from Oil Contaminated Soil*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10(April), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.855762>
- Yusuf, Z. K., Pengajar, S., Kesehatan, J., & Fikk, M. (2010). *Polymerase Chain Reaction (PCR)* (Vol. 5, Issue 6).