

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU *ANNEALING* PCR GEN  
*FENGYCIN* DAN *ITURIN* PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

**FEGI ABRIYANTO  
A191107**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2023**

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU *ANNEALING* PCR GEN  
*FENGYCIN* DAN *ITURIN* PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**FEGI ABRIYANTO**

**A191107**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA**

**YAYASAN HAZANAH**

**BANDUNG**

**2023**

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU *ANNEALING* PCR GEN *FENGYCIN* DAN  
*ITURIN* PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

**Fegi Abriyanto  
A 191 107**

**Agustus 2023**

**Disetujui Oleh:**

**Pembimbing**

**Pembimbing**

**Irma Mardiah, M.SI.**

**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 Allah SWT dengan segala rasa Syukur atas Rahmat, hidayah dan berkah-Nya yang tiada terhingga. Serta Bapak dan Ibu yang selalu memberikan kasih sayang, doa, dan dukungan tanpa henti.

## ABSTRAK

Biosurfaktan merupakan senyawa permukaan aktif yang berasal dari mikroorganisme yang memiliki sifat biodegradable, tidak berbahaya dan menggunakan sumber yang dapat diperbaharui. Bakteri *Bacillus cereus* berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan golongan lipopeptida. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi gen pengkode enzim *fengycin* dan *iturin* dari *Bacillus cereus* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Genom *Bacillus cereus* diisolasi menggunakan kit ekstraksi DNA dan dianalisis menggunakan gel elektroforesis agarose. Gen *fengycin* dan *iturin* diisolasi dengan mengamplifikasi genom menggunakan primer spesifik pada variasi suhu *annealing*. Keberadaan fragmen DNA dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarose. Hasil isolasi genom menunjukkan terdapat pita dengan ukuran lebih dari 10 kb. Hasil elektroforesis ekstraksi genom menunjukkan terdapat pita dengan ukuran lebih dari 10 kb. Hasil elektroforesis dari PCR primer *fengycin* fen BC dengan suhu *annealing* 61 °C terdapat pita berukuran 0,25 kb dan fen CN dengan suhu *annealing* 66 °C terdapat pita berukuran 0,5 kb sedangkan gen *iturin* srfA dengan suhu *annealing* 57 °C terdapat pita berukuran 5 kb sedangkan primer gen *iturin* srfB dengan suhu *annealing* 57 °C terdapat pita berukuran 4 kb. Menunjukkan bahwa gen yang teramplifikasi diduga gen *fengycin* dan *iturin* karena ukurannya tidak lebih dari 10 kb.

**Kata kunci:** Ekstraksi DNA, PCR, Elektroforesis.

## ABSTRACT

*Biosurfactants are surface active compounds derived from microorganisms that are biodegradable, harmless and use renewable sources. Bacillus cereus bacteria has the potential to produce lipopeptide class of biosurfactants. This research was conducted to isolate the genes coding for the enzymes fengycin and iturin from Bacillus cereus using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The genome of Bacillus cereus was isolated using a DNA extraction kit and analyzed using agarose gel electrophoresis. The fengycin and iturin genes were isolated by amplifying the genome using specific primers at various annealing temperatures. The presence of DNA fragments was analyzed using agarose gel electrophoresis. The genome isolation results show that there are bands with a size of more than 10 kb. The results of genome extraction electrophoresis showed that there were bands with a size of more than 10 kb. The electrophoresis results from the PCR primer fengycin fen BC with an annealing temperature of 61 oC had a band of 0.25 kb and fen CN with an annealing temperature of 66 oC had a band of 0.5 kb while the iturin srfA gene with an annealing temperature of 57 oC had a band of 5 kb while the primer of the iturin srfB gene with an annealing temperature of 57 oC has a 4 kb band. It shows that the amplified genes are thought to be the fengycin and iturin genes because their size is not more than 10 kb.*

**Keywords:** *DNA Extraction, Polymerase Chain Reaction, Electrophoresis.*

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim,*

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Efektivitas Kondisi Suhu *Annealing* Pcr Gen *Fengycin* Dan *Iturin* Pada Bakteri *Bacillus Cereus*”.

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

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Irma Mardiah, M.SI. dan Nur Asni Setiani, M.SI. atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis 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. apt. Maria Ulfah, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Kedua orang tua tercinta, Ibu dan Bapak yang selalu memberikan Do'a dan dukungan, Adek dan kakak yang selalu memberikan semangat, serta keluarga besar yang selalu mendoakan dan membantu dalam segala hal,
7. Sahabat-sahabat angkatan 2019 serta sahabat-sahabat terdekat yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

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 ugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Agustus 2022  
Penulis



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
KUTIPAN .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I      PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian.....	2
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian.....	2
BAB II     TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Biosurfaktan.....	3
2.1.1 Klasifikasi Biosurfaktan.....	3
2.1.2 Manfaat Biosurfaktan Dalam Bidang Farmasi .....	3
2.1.3 Gen <i>Fengycin</i> .....	4
2.1.4 Gen <i>Iturin</i> .....	4
2.2 Bakteri.....	5
2.2.1 Metabolisme yang dihasilkan bakteri .....	5
2.2.2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	5
2.3 Isolasi DNA.....	6
2.4 Struktur DNA .....	6
2.5 <i>Polymerase Chain reaction</i> (PCR).....	7
2.5.1 Denaturasi.....	7
2.5.2 <i>Annealing</i> .....	8
2.5.3 <i>Extention</i> (Pemanjangan Primer).....	8
2.6 Elektroforesis .....	9
BAB III    TATA KERJA.....	10
3.1 Alat .....	10
3.2 Bahan .....	10
3.3 Metode Penelitian.....	10

	3.3.1 Sterilisasi Alat, Bahan dan Media.....	10
	3.3.2 Isolasi Genom <i>Bacillus cereus</i> .....	10
	3.3.3 Elusi .....	11
	3.3.4 PCR ( <i>Polymerase Chain reaction</i> ) .....	12
	3.3.5 Elektroferesis .....	14
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
	4.1 Ekstraksi DNA <i>Bacillus Cereus</i> .....	15
	4.2 PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	17
	4.3 Elektroforesis .....	19
BAB V	KESIMPULAN.....	22
	5.1 Simpulan .....	22
	5.1 Alur Penelitian Selanjutnya .....	22
	DAFTAR PUSTAKA .....	23
	LAMPIRAN .....	26

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Data Primer Gen <i>Fengycin</i> .....	12

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur <i>fengycin</i> .....	4
2.2 Struktur <i>Iturin</i> .....	4
2.2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	5
4.1 Hasil visualisasi ekstraksi DNA .....	17
4.2 Hasil proses running PCR .....	18
4.3 Hasil visualisasi gen <i>fengycin</i> .....	20
4.3 Hasil visualisasi gen <i>iturin</i> .....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Bahan .....	26
2. Pembuatan Media Dan Sterilisasi .....	27
3. Isolasi Dan Deteksi Gen .....	29

## 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 SurfactantEnhanced 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.
- Das, P., Mukherjee, S., & Sen, R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. Journal of applied microbiology, 104(6), 1675-1684.
- 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 Biodesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi.
- Hamida, F., 2010. Pengaruh Konsentrasi Crude Gliserol (Limbah Biodesel) 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.