

**ANALISIS SEKUENSING SERTA KONSTRUKSI GEN *srfAA*,
srfAB, *srfAC* DARI BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PADA
PLASMID pUC57 DAN pPM ,SERTA DARI BAKTERI *Bacillus
cereus* PADA PLASMID pUC57 DAN pBT6**

SKRIPSI

DEYA PUTRI RAMADHANI

A 182 011



SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA

YAYASAN HAZANAH

BANDUNG

2023

**ANALISIS SEKUENSING SERTA KONSTRUKSI GEN *srfAA*, *srfAB*,
srfAC DARI BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PADA PLASMID
pUC57 DAN pPM ,SERTA DARI BAKTERI *Bacillus cereus* PADA
PLASMID pUC57 DAN pBT6**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

DEYA PUTRI RAMADHANI

A 182 011



SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA

YAYASAN HAZANAH

BANDUNG

2023

LEMBAR PENGESAHAN

**HASIL ANALISIS SEKUENSING SERTA KONSTRUKSI GEN *srfAA*,
srfAB, *srfAC* DARI BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PADA PLASMID
pUC57 DAN pPM, SERTA DARI BAKTERI *Bacillus cereus* PADA
PLASMID pUC57 DAN pBT6**

DEYA PUTRI RAMADHANI

A182011

Agustus 2023

Disetujui Oleh:

Pembimbing

Pembimbing

Irma Mardiah, M.Si

Umi Baroroh, S.Si., M.Biotek

KUTIPAN

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

PERSEMBAHAN

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

ABSTRAK

Salah satu biosurfaktan golongan lipopeptida yaitu *Surfactine synthase*, kelompok lipopeptida yang paling populer. *Surfactine synthase* memiliki sifat bioaktif yang diproduksi oleh beberapa bakteri seperti *Bacillus cereus* dan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Surfactine synthase* digunakan dalam penelitian ini sebagai gen target untuk dilakukan analisis sekuensing dari gen *surfactine synthase* yang bertujuan untuk pengembangan gen *surfactin synthase* dari bakteri *Bacillus cereus* dan selanjutnya Mencari enzim restriksi yang tepat untuk melakukan konstruksi gen *surfactine synthase* dari bakteri *Bacillus cereus* terhadap plasmid pUC57 dan pBT6 serta bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada plasmid pUC57 dan pPM. analisis sekuensing menunjukkan sekuence sampel memiliki kemiripan Panjang sekuens sebesar 74% dan kesamaan basa nukleotida sebesar 99,13% dengan gen *Surfactine synthase* dari bakteri *Bacillus cereus* dibandingkan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. sekuence ini kemudian dilanjutkan dengan analisis penentuan enzim restriksi yang tidak memotong sekuence pada vector plasmid. Didapat enzim restriksi yang sesuai adalah EcoRI dan BamHI. Hasil konstruksi gen pada plasmid pUC57 adalah pada posisi bp 167 dan Kodon stop ditemukan di dalam CDS pada posisi bp 167. Penelitian ini dapat memberikan inovasi teknologi atau pengembangan baru untuk menghasilkan gen *Surfactine synthase* dari bakteri *Bacillus cereus*.

Kata Kunci : *Surfactine synthase*, pUC57, lipopeptida, *Bacillus cereus*, DNA rekombinan.

ABSTRACT

One of the lipopeptide biosurfactants is Surfactine synthase, the most popular lipopeptide group. Surfactine synthase has bioactive properties which are produced by several bacteria such as Bacillus cereus and Staphylococcus epidermidis bacteria. Surfactine synthase was used in this study as a target gene for analysis of the sequencing of the surfactine synthase gene with the aim of developing the surfactin synthase gene from the bacterium Bacillus cereus and then looking for the right restriction enzymes to carry out the construction of the surfactine synthase gene from the bacterium Bacillus cereus against plasmids pUC57 and pBT6 and Staphylococcus epidermidis on the plasmid pUC57 and pPM. Sequencing analysis showed that the sample sequences had 74% similarity in length and 99.13% similarity in nucleotide bases with the Surfactine synthase gene from Bacillus cereus bacteria compared to Staphylococcus epidermidis. This sequence is then followed by analysis of restriction enzyme release that does not cut the sequence in the plasmid vector. The suitable restriction enzymes were EcoRI and BamHI. The result of gene construction on the pUC57 plasmid is at position bp 167 and a stop codon is found in CDS at position bp 167. This research can provide technological innovation or new development to produce the Surfactine synthase gene from Bacillus cereus bacteria.

Keywords : *Surfactin synthase, pUC57, lipopeptide, Bacillus cereus, 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 “**Analisis Sekuensing Serta Konstruksi Gen *srfAA*, *srfAB*, *srfAC* dari Bakteri *Staphylococcus epidermidis* Pada Plasmid pUC57 dan pPM ,Serta dari Bakteri *Bacillus cereus* Pada Plasmid pUC57 dan pBT6**”.

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 Umi Baroroh,S.Si.,M.Biotek 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 Staf Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
6. Orang Tua Penulis Bapak Sri Mulyadi dan Ibu Dewi Sayekti yang sudah berjuang dan selalu memberikan doa serta dukungan.

7. Rekan seperjuangan Angkatan 2019 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, Agustus 2023

Deya Putri Ramadhani

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Surfaktan.....	5
2.1.1 Definisi Surfaktan	5
2.1.2 Mekanisme Kerja Surfaktan	5
2.2 Biosurfaktan.....	6
2.2.1 Definisi Biosurfaktan	6
2.2.2 Biosurfaktan dari Mikroorganisme	6
2.2.3 Manfaat Biosurfaktan Dalam Bidang Farmasi	9
2.2.4 Lipopeptida	10
2.3 Gen <i>Surfactin Synthase</i>	10

2.4	Bakteri	12
2.4.1.	Bakteri Staphylococcus epidermidis	12
2.4.2.	Bakteri Bacillus cereus	13
2.5	Pemetaan Genetik	14
2.6	DNA Rekombinan.....	15
2.7	Enzim Restriksi.....	16
2.8	Enzim Ligase	16
2.9	Plasmid	17
2.10	Analisis Sekuensing	19
2.11	Perangkat lunak (<i>Software</i>)	20
2.11.1	MegaSoftware.....	20
2.11.2	BioEdit	20
2.11.3	NebCutter	21
2.11.4	GenSmart.....	21
BAB III	TATA KERJA	22
3.1	Alat.....	22
3.2	Bahan.....	22
3.3	Metode Penelitian	22
3.3.1	Analisis sekuensing dan Kontruksi Gen.....	22
BAB IV	PEMBAHASAN.....	24
4.1	Hasil Analisis Sekuensing	24

4.2	Penyiapan Vektor Kloning dan Vektor ekspresi.....	29
4.3	Kontruski Gen menggunakan GenSmart.....	30
BAB V KESIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA		33
5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya.....	33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMPIRAN		36

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Jenis-Jenis Biosurfaktan dan Mikroorganisme Penghasilnya.....	8
--	---

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> (pixels.com).....	12
Gambar 2. 2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i> (Journal of Science and Technology).....	13
Gambar 2. 3 Diagram vector kloning pUC57 pada bakteri <i>Staphylococcus epidermis</i> (snapgene.com).....	17
Gambar 2. 4 Diagram vector ekspresi pPM pada bakteri <i>Staphylococcus epidermis</i> (snapgene.com).....	18
Gambar 2. 5 Diagram vector kloning pUC57 pada bakteri <i>Bacillus cereus</i> (snapgene.com).....	18
Gambar 2. 6 Diagram vector ekspresi pBT6 pada bakteri <i>Bacillus cereus</i> (addgene.org).....	19
Gambar 4. 1 Pembacaan Gen <i>Surfactin synthase</i>	29
Gambar 4. 2 Hasil Pensejajaran sekuens dari Gen <i>Surfactin Synthase</i>	30
Gambar 4. 3 Hasil Persentase Gen yang akan disispkan dengan software NCBI..	31
Gambar 4. 4 Enzim restriksi yang ada pada gen <i>surfactin synthase</i>	32
Gambar 4. 5 Multiple cloning sites plasmid pUC57.....	33
Gambar 4. 6 Hasil penyisipan gen <i>surfactin synthase</i> ke dalam plasmid pUC57..	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Kontruksi Gen pada plasmid pBT6	36
Lampiran 2. Hasil Kontruksi Gen pada plasmid pUC57.....	36
Lampiran 3. Membuka sekuensing dengan BioEdit	37
Lampiran 4. Pembacaan sekuensing gen.....	37
Lampiran 5. Menyimpan hasil sekuensing dengan format FASTA	38
Lampiran 6. Proses Alignment sekuensing menggunakan aplikasi MegaX 11	38
Lampiran 7. Membuat Alignment sekuensing gen	39
Lampiran 8. Pemilihan tipe alignment DNA	39
Lampiran 9. Insert sekuens dari file.....	40
Lampiran 10. Memasukan sekuens yang dilakukan alignment	40
Lampiran 11. Pilih semua sekuens yang akan dilakukan alignment.....	41
Lampiran 12. Alignment sekuens dan pilih matrix DNA ClustalW	41
Lampiran 13. Hasil pensejajaran gen <i>Surfactin synthase</i> dengan srfab	42
Lampiran 14. Hasil pensejajaran gen <i>Surfactin synthase</i> dengan srfaa.....	42
Lampiran 15. Hasil pensejajaran gen <i>Surfactin synthase</i> dengan srfac.....	43
Lampiran 16. Hasil pensejajaran gen <i>Surfactin synthase</i> dengan srfad	43
Lampiran 17. Melakukan pencocokan gen dengan website NCBI	44
Lampiran 18. Persentase kesamaan gen dengan bakteri <i>Bacillus cereus</i>	44
Lampiran 19. Mencari Enzim restriksi pada website NebCutter V2.0.....	45
Lampiran 20. Hasil Enzim restriksi dari gen	45
Lampiran 21. Kontruksi gen menggunakan website GenSmart.....	46
Lampiran 22. Penamaan kontruksi gen menggunakan plasmid pUC57.....	46

Lampiran 23. Peta plasmid pUC57	47
Lampiran 24. Penempatan sekuens pada plasmid pUC57 dari gen	47
Lampiran 25. Memasukan sekuens gen <i>Surfactin synthase</i>	48
Lampiran 26. Plasmid yang sudah disispkan gen <i>Surfactin synthase</i>	48
Lampiran 27. Penempatan sekuens gen <i>Surfactin synthase</i>	49
Lampiran 28. Pemilihan stop kodon dan start kodon.....	49
Lampiran 29. Hasil akhir kontruksi gen <i>Surfactin synthase</i>	50
Lampiran 30. Senyawa penanda gen <i>Surfactin synthase</i>	50

DAFTAR PUSTAKA

- Alzohairy AM. (2011). “*BioEdit: An important software for molecular biology.*”
<https://www.researchgate.net/profile/Ahmed-Alzohairy>.
- Brown, T.A. (2010). “*Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction*”.
Hongkong: Graphicraft Limited. Hal. 13-17.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., and Stryer, L. (2002). Prokaryotic DNA-binding proteins bind specifically to regulatory sites in operons. In *Biochemistry* (5th ed., section 31.1). New York, NY: W. H. Freeman. Retrieved <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22512/>.
- Desai, J.D. dan I.M. Banat, (1997), “*Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential, [Review]*”, *Microbiol. Mol. Biol.*, 61:47-64.
- Fakruddin, M., (2012). “*Biosurfactant: Production and Application.*” *J Pet Env. Biotechnol* 3.
- Hassan, S. E., Shaaban, M. T., & Abd-Alla, M. H. (2016). “*Improvement of surfactin production by Bacillus cereus SH1 using different agricultural wastes*”. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8, 118-125.
- Hyde, D.R. (2009). “*Introduction to Genetic Principle*”. New York : McGraw-Hill Companies Inc.
- Irawan, Isa M. (2011). “*Bioinformatika Menggunakan Toolbox Matlab*”. ITS Surabaya.
- Metzker M. 2010. Sequencing technologies—The next generation. *Nat Rev Genet.* 11:31-46. doi:10.1038/nrg2626.
- Setiani Nur Asni, Nia Agustiana, Syarif Hamdani, Irma Mardiah, Dewi Astriany. (2020). “Potensi *Bacillus cereus* dalam produksi biosurfaktan”. *Jurnal Biologi Udayana*. Hal. 136.
- Ongena M, Jourdan E, Adam A, Paquot M, Brans A. (2007). “*Surfactin dan fengycin lipopeptides dari Bacillus subtilis sebagai elisitor resistensi sistemik yang diinduksi pada tanaman*”. *Lingkungan Mikrobiol* 9: 1084-1090.
- 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.*
- Prijibelski, A.D., Korobeynikov, A.I. & Lapidus, A.L. (2018). *“Sequence analysis. Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology”*: ABC of Bioinformatics,.
- Reningtyas, R. & Mahreni (2015). *“Biosurfaktan.” Eksergi, XII(2): 12-22.*
- Silaban, S., Gaffar, S., Simorangkir, M., Maksum, I.P., & Subroto, T. (2019) *“Construction and Optimization of Prethrombin-2 Human Genes in E.coli for the Production of Active Thrombin”*. Journal of Physics: Conference Series. 1374(1).
- Silitonga, Y. (2016). *“Resistensi Cronobacter Sakazakii Terhadap Ampisilin dan Hubungannya dengan Stabilitas dan Ekspresi Gfpuv [tesis]”*. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Subhan Hadi Kusuma, Karlia Meitha, Sony Suhandono.(2020). *“Karakterisasi Biosurfaktan Di-Rhamnolipid dalam Rekombinan Escherichia coli”*. Bahan Teknik Utama ISSN: 1662-9795, Vol. 874, hlm 107-114 doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.874.107 .2021 Trans Tech Publications Ltd, Swiss.
- Sudhir Kumar, Glen Stecher, and Koichiro Tamura (2016). *“MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets.”* Molecular Biology and Evolution, 33(7), 1870-1874.
- Wang, J. (2021). *“Regulation of surfactin synthesis: Recent advances and future prospects”*. Biotechnology Advances, 49, 107790.
- 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
- Yamin, A.(2012). *“Ekstraksi Asbuton Dengan Mikroba (Isolasi Mikroba Asbuton)”*. Bandung: Penerbit Informatika. Hal. 41-42.
- Zajic, J.E., H. Guignard, D.F. Gerson, (1977), *“Emulsifying and Surface Active Agents from Corynebacterium hydrocarboclastus”*, Biotech. Bioeng., 19:1285-1301.