

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU ANNEALING PCR GEN
SURFACTIN SYNTHASE DARI BAKTERI *Bacillus cereus***

SKRIPSI

**TAUFIK HIDAYAT
A191131**



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

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU ANNEALING PCR GEN
SURFACTIN SYNTHASE PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**TAUFIK HIDAYAT
A191131**



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

**EFEKTIVITAS KONDISI SUHU ANNEALING PCR GEN
SURFACTIN SYNTHASE PADA BAKTERI *Bacillus cereus***

**TAUFIK HIDAYAT
A191131**

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 kupersembahkan untuk papa yang selalu mensupport dan selalu berusaha membuat tenang putra sulungnya yang *overthinking* dan cuek bahwa sebenarnya dirinya dicintai begitu besar. Juga untuk mama yang tak pernah lupa menyelipkan putra manja di setiap lantunan doa panjangnya. Jika ada kata yang lebih dalam maknanya dari kata terima kasih, maka itu untuk kalian, ma, pa, dan untuk diriku terima kasih sudah mau berjuang dan masih tidak menyangkan bisa bertahan sekeras itu hingga detik ini dan. Kamu keren banget, Fik. *Give ur applause for yourself.*

ABSTRAK

Biosurfaktan merupakan komponen mikroba yang terdiri dari molekul hidrofilik dan hidrofobik yang mampu membuat ikatan dengan molekul hidrokarbon yang tidak larut air, serta membuat tegangan permukaan menjadi turun. *Bacillus cereus* berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan golongan lipopeptida. Penelitian ini bertujuan mendapatkan keseluruhan genom *Bacillus cereus* dan mendapat kondisi optimum suhu penempelan primer yang digunakan untuk memunculkan gen *surfactin synthase* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penelitian ini dimulai dengan meremajakan bakteri *Bacillus cereus*, isolasi genom menggunakan *Presto™ Mini gDNA Bacteria kit*, dan perbanyak gen target melalui PCR. Analisis genom dan fragmen DNA dari gen dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Didapatkan analisis hasil visualisasi elektroforesis genom dengan ukuran lebih dari 10 kb. Deteksi gen pengkode pengkode *surfactin synthase* pada gel agarose 1% menunjukkan hasil pasangan primer srfA4f,srfA4R T *annealing* 57°C terdapat pita DNA 2 kb dan srfB5F, srfB5R pada T *annealing* 57°C terdapat pita berukuran 1,5 kb, dan srfA3R di T *annealing* 61,6°C menunjukkan terdapat pita DNA berukuran 2 kb.

Kata Kunci: Ekstraksi DNA, *Polymerase Chain Reaction*, Elektroforesis, T *annealing*

ABSTRACT

Biosurfactants are microbial components consisting of hydrophilic and hydrophobic molecules that can form bonds with hydrocarbon molecules that are insoluble in water, as well as reduce the surface tension. Bacillus cereus holds potential as a producer of lipopeptide-type biosurfactants. This study aims to obtain the complete genome of Bacillus cereus and determine the optimal primer annealing temperature for amplifying the surfactin synthase gene using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The research begins with the cultivation of Bacillus cereus bacteria, genome isolation using the Presto™ Mini Bacteria gDNA Kit, and amplification of the target gene through PCR. Genomic analysis and DNA fragment analysis of the gene are performed using agarose gel electrophoresis. The results reveal the visualization analysis of the genomic electrophoresis, showing fragments larger than 10 kb. Detection of the surfactin synthase-encoding gene on a 1% agarose gel demonstrates that the srfA4f-srfA4R primer pair at 57°C T annealing temperature yields a 2 kb DNA band, while srfB5F-srfB5R at 57°C T annealing temperature yields a 1.5 kb band, and srfA3R at a 61.6°C annealing temperature shows a 2 kb DNA band.

Keywords: DNA Extraction, Polymerase Chain Reaction, Electrophoresis, T annealing,

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah, rahmat, dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“EFEKTIVITAS KONDISI SUHU ANNEALING PCR GEN SURFACTIN SYNTHASE PADA BAKTERI *Bacillus cereus*”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam 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 W, M.Si., selaku Wakil Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. Pupung Ismayadi, S.T, M.M., selaku Wakil ketua II Bidang Keuangan,
4. Dr. apt. Revika Rachmaniar, M. Farm., selaku Wakil ketua III Bidang Humas, Kemahasiswaan,dan Alumni,
5. Dr. Apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Apt. Rival Ferdiansyah, M.Farm. selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberi arahan kepada penulis
7. Seluruh Staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
8. Bapak Idision, S.H dan Ibu Diana S.P *my beloved parents* yang selalu bangga dan selalu mendoakan terbaik untuk anak laki-laki pertamanya yang cuek ini tapi sebenarnya sangat sayang dan protektif sama orang tuanya.
9. Nisa Saonah, Silfian nur'ain, dan Sirly Hertian *my beloved bestfriends* yang sejak awal pertemuan ternyata sudah berhasil menempati ruang- ruang kosong dan memberi berbagai warna di hidup si manusia paling absurd dan random ini
10. Teman-teman yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama penulis berkuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih ada banyak kekurangan dan kesalahan dikarenakan kurangnya pengetahuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa mendatang.

Penulis juga berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan pihak lain yang bersangkutan.

Bandung,

Penulis Agustus 2023

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.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Biosurfaktan.....	4
2.1.1 Definisi Biosurfaktan.....	4
2.1.2 Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan.....	4
2.1.3 Klasifikasi Biosurfaktan.....	5
2.1.4 Proses Produksi Biosurfaktan.....	9
2.1.5 Manfaat Biosurfaktan di Bidang Kesehatan dan farmasi...	10
2.2 Gen <i>Surfactin Synthase</i>	10
2.2.1 Mekanisme Pembentukan <i>Surfactin</i>	11
2.2.2 Fungsi <i>Surfactin</i>	11
2.3 Bakteri.....	12
2.3.1 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	12
2.4 Isolasi DNA.....	12
2.5 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	14
2.5.1 Peranan dan Fungsi PCR.....	14
2.5.2 Komponen PCR.....	15
2.5.3 Tahapan Reaksi PCR.....	17
2.5.4. DNA Polimerase.....	19
2.5.5 Aplikasi PCR di Bidang Klinis.....	20
2.5.6 Kelebihan dan Kekurangan PCR.....	21
2.6. Elektroforesis.....	21

BAB III TATA KERJA.....	22
3.1 Alat.....	22
3.2 Bahan.....	22
3.3 Metode Kerja.....	22
3.3.1 Peremajaan Isolat Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	22
3.3.2 Isolasi genom <i>Bacillus cereus</i>	22
3.3.3 Amplifikasi Gen Pengkode <i>Surfactin</i>	23
3.3.4 Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Ekstraksi DNA <i>Bacillus cereus</i>	26
4.2 Amplifikasi Gen Pengkode <i>Surfactin</i>	27
4.3 Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis.....	29
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	31
5.1 Simpulan.....	31
5.2 Alur Penelitian.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan, Jenis, dan Aktivitas Biosurfaktan...	5
3.1 Komponen PCR.....	23
3.2 Primer gen <i>surfactin</i> bakteri <i>Bacillus cereus</i>	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur <i>surfactin</i>	11
2.2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	12
2.3 Skema Amplifikasi PCR.....	18
2.4 Ilustrasi Elektroforesis.....	20
4.1 Hasil visualisasi ekstraksi genom.....	27
4.2 Hasil proses running PCR.....	28
4.3 Hasil visualisasi gen <i>surfactin</i>	29
4.4 Hasil visualisasi gen <i>surfactin</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Media dan Larutan.....	35
2. Pembuatan Media, Sterilisasi, Kultur Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	36
3. Isolasi dan Deteksi Gen <i>surfactin</i>	37

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M. Elazzazy, T.S. Abdelmoneim, O.A. Almaghrabi. (2015) "Isolation and Characterization of Biosurfactant Production Under Extreme Environmental Conditions By Alkali-Halo-Thermophilic Bacteria From Saudi Arabia." *Saudi Journal of Biological Sciences* 22: 466-475.
- Ali Nawazish. Zhengjun Pang. Fenghuan Wang. Baocai Xu, Hesham R. El-Seedi (2021) "Lipopeptide Biosurfactants from *Bacillus* spp.: Types, Production, Biological Activities, and Applications in Food". *Journal of Food Quality*. 2-7.
- Banat, I.M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M.G., Fracchia, L. Smyth, T.J., Marchant, R. (2010) "Microbial Biosurfactants Production, Applications, and Future Potential." *Applied Microbiology and Biotechnology* 87: 427-444.
- Bintang Maria. Fri rahmawati. Ukhradiya Safira. Dimas Andrianto. (2020) "Biokimia Fisik". Bogor: IPB Press.
- Caetano-Anollés, D. (2013) "Polymerase Chain Reaction." *In Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*. USA: University of Illinois. P. 392-395.
- Daniel L. Hartl and Elizabeth W. Jones. (2017) "Essential Genetics: A Genomics Perspective", 7th Edition.
- Fakruddin Md. (2012) "Biosurfactant: Production and Application." *J Pet Environ Biotechnol* 3 (4): 124.
- Geneaid. (2017) "*Presto™ Mini gDNA Bacteria kit*". Taiwan.
- Irianto, K. (2017) "Biologi Molekuler", edisi ke-1. Bandung: Penerbit Alfabeta. Hal.362-370; 522-531.
- Kamaliah, (2017) "Perbandingan Metode Ekstraksi DNA *Phenol-Cloroform* dan *Kit Extraction* pada Sapi Acih dan Sapi Madura. UIN Ar-Raniry. Aceh.
- Kim, S.U, Hwang, I., Park, B.K., Kim, S., Moon, J.S., Park, H.Y., Jeong, T.S. (2013) Cloning and Base Sequence Determination Of Novel, Iturn Bosynthesis Gene From Antagonstc Microorganism *Bacillus Subtilis* and Characteristics Of The Gene. United States. Nomor Paten 0165635.
- MT, Mahreni. Ir. Dyah Rachmawati Lucitasari, M.T. Mitha Puspitasari, ST., M.Eng (2021) "Biosurfaktan". UPN Veteran Yogyakarta: Yogyakarta.
- Mudita, Fatka fara. (2021) "Isolasi Gen Pengkode *Surfactin Synthetase* dari Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Bacillus cereus* Serta Uji Karakterisasi Produk Biosurfaktan". Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Bandung.
- Nababan, E & Hasruddin. (2015) "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*". *Jurnal Biosains*. Vol 1, No. 2,

- Naibaho Frans Grovy, Nunuk Priyani, Erman Munir, Nina Septania Damanik. (2020) "Isolasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Menggunakan Media yang Mengandung Pestisida Karbosulfan" *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*. 21-22.
- Putra, S.A.P. (2018) "Peran Biosurfaktan Dari Proses Composting Untuk Desorpsi Hidrokarbon Pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi." Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Hal. 2-13.
- Rani Mamta. Joel T. Weadge. Suha Jabaji. (2019) "Isolation and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria From Oil Well Batteries with Antimicrobial Activities Against Food-Borne and Plant Pathogen." *Frontiers in Microbiology*.
- Setiani Nur Asni, Nia Agustina, Irma Mardiah, Syarif Hamdani, Dewi Astriany. (2020) "Potensi *Bacillus cereus* dalam produksi biosurfaktan". *Jurnal Biologi Udayana*. Hal. 136.
- 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).
- Westermeier. (2004) "Electrophoresis In Practice: A Guide To Theory and Practice. New Jersey": John Wiley & Sons Inc.
- Wignyanto. (2020) "Bioremediasi Dan Aplikasinya". Ke-1. Malang: UB Press.
- Yamin, A. (2012) Ekstraksi Asbuton Dengan Mikroba (Isolasi Mikroba Asbuton). Bandung: Penerbit Informatika. Hal. 41-42.
- Yepyhardi. (2009) "Elektroforesis: Pintu Gerbang Penelitian Biologi Molekuler." Jakarta: UI Press. Hal. 10-13.
- Zhu Zhiwen, Baiyu Zhang, Bing Chen, Jingjing Ling, Qinghong Cai, Tahir Husain. (2019) "Fly Ash Based Robust Biocatalyst Generation: A Sustainable Strategy Towards Enhanced Green Biosurfactant Production and Waste Utilization." *Paper: The Royal Society of Chemistry* 9: 20216-20225.