

ABSTRAK'

AMPLIFIKASI *in vitro* GEN PENGKODE PEMSILIN V ASILASE dari *Bacillus* sp. strain BACS

Di dalam materi genetik *Bacillus* sp. strain BACS diketahui - - terdapat gen Penisilin V Asilase. Hal ini terbukti dengan dihasilkannya Penisilin V Asilase secara ekstraseluler oleh *Bacillus* sp. strain BACS.

Penelitian ini bertujuan untuk mengamplifikasi fragmen gen Penisilin V Asilase dari *Bacillus* sp. strain BACS menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer-primer *Bacillus subtilis*.

Penelitian ini dimulai dengan mengisolasi DNA kromosom *Bacillus* sp. strain BACS, dilanjutkan dengan mengamplifikasi fragmen gen Penisilin V Asilase dengan metode PCR dengan kondisi denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, selanjutnya masuk ke tahap *annealing*, yang dilakukan dengan mengkombinasikan suhu (40-48°C) dan waktu (1-1,5 menit). Tahap *extension* dilakukan pada suhu 72°C, waktu yang dipakai selama tahap ini dikombinasikan antara 1-1,5 menit. Hasil dari amplifikasi tersebut kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1,5%. Setelah 1 jam hasilnya dilihat dengan menggunakan transluminator UV.

Pada penelitian ini diharapkan menghasilkan pita DNA yang berukuran sekitar 2,5 kilobasa, namun dari hasil penelitian tidak didapatkan pita spesifik yang diinginkan, pita yang didapatkan selalu *smear*. Hal ini dapat disebabkan oleh kondisi amplifikasi yang belum optimum atau karena primer yang digunakan kurang spesifik.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fragmen gen Penisilin V Asilase dari *Bacillus* sp. strain BACS belum berhasil diamplifikasi dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Oleh karena itu disarankan untuk melakukan amplifikasi ulang dengan mencari kondisi amplifikasi yang lebih tepat dan merancang primer (-primer) baru yang lebih spesifik.

ABSTRACT

Amplification *in vitro* Gene Coding Penicillin V Acylase from
Bacillus sp. strain **BACS**

Felicia, 2001. Tutors : Sylvia Soeng,dr; Philips Onggowidjaja, S.Si.,M.Si.

In genetic material of *Bacillus* sp. strain **BAC5 known** there is gene of Penicillin V Acylase. This is evidence with resulted Penicillin V Acylase extracellular by *Bacillus* sp. strain BAC.

This research is aimed to amplify fragment gene of Penicillin V Acylase from *Bacillus* sp. strain BACS with using method of Polymerase Chain Reaction (PCR) with using primary *Bacillus subtilis*.

This research is started with isolated DNA chromosome of *Bacillus* sp. strain BAC5, then continued with amplifying fragment gene of Penicillin V Acylase by PCR technique with denaturation condition at temperature 94°C for 1 minute, furthermore into the annealing step that implementing with temperature combined ($40-48^{\circ}\text{C}$) and time (**1-1,5** minutes). The extension step implementing at temperature 72°C , applied time for this step combined about 1-1,5 minutes. The result of this amplification must be electrophoresis by using agarose gel 1,5%. After 1 hour the result can be founded with using transilluminator UV.

This research is expected to result DNA strain that measured around 2,5 kilobase, but this result of research not obtained specific band to be wished, the obtained result were always smear. This problem can be caused by amplification condition not yet optimal or this is caused by used primary lack specific.

From this research which carried out to be collected that fragment DNA chromosome of sp. strain BACS not to be amplified with using PCR technique.

Hence to be suggested to implement re-amplification with seek amplification condition properly and more correctly, and arranging primer(s) more specific.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
PERNYATAAN MAHASISWA	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
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. Maksud dan Tujuan	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
1.5. Metodologi	4
1.6. Lokasi dan Waktu	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1. Penisilin	5
2.2. Peranan Penisilin V Asilase dalam Pembuatan Antibiotik Semisintetik Turunan Penisilin	6
2.3. Amplifikasi Molekul DNA dengan Metode PCR	9
2.3.1. Metode PCR	9
2.3.2. Komponen-Komponen PCR	12
2.3.2.1 Primer	12
2.3.2.2 Enzim DNA Polimerase	12
2.3.2.3 Deoksiribonukleosidatriphosfat (dNTP), Bufer PCR	12
2.4. Elektroforesis	13
 BAB III METODE PENELITIAN	 17
3.1. Isolasi DNA Kromosom <i>Bacillus sp.</i> strain BACS	17
3.2. Amplifikasi Fragmen Gen Penisilin V Asilase <i>Bacillus sp.</i> strain BACS dengan Metode PCR	18
3.3. Karakterisasi produk PCR dengan Elektroforesis	19

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
	4.1. Isolasi DNA Kromosom <i>Bacillus</i> sp.strain BAC5	21
	4.2. Amplifikasi Fragmen Gen Penisilin V Asilase <i>Bacillus</i> sp.strain BAC5 dengan Metode PCR dan Analisis Hasil	21
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	23
	5.1. Kesimpulan	23
	5.2. Saran	23
	DAFTAR PUSTAKA	24
	LAMPIRAN 1	27
	LAMPIRAN 2	29
	RIWAYAT HIDUP	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Jenis-jenis penisilin alami yang diproduksi dari <i>Penicillium sp</i>	6
2.2. Beberapa antibiotik semisintetis turunan penisilin dan sifat-sifatnya	7

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur kimia penisilin	6
2.2. Reaksi hidrolisis benzilpenisilin oleh Penisilin G Asilase	8
2.3. Tahap-tahap reaksi dalam siklus PCR	11
2.4. (A) Struktur molekul etidiumbromida (EtBr), (B) Penguraian parsial heliks ganda molekul DNA akibat penyisipan molekul etidiumbromida di antara pasangan basa yang berdekatan	15
2.5. Perkiraan ukuran fragmen molekul DNA dalam gel agarosa	16
4.1. Hasil amplifikasi fragmen gen Penisilin V Asilase <i>Bacillus</i> sp. strain BAC5	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1	27
Lampiran 2	29