

ABSTRAK

Amplifikasi *in vitro* Gen Pengkode Penisilin V Asilase dari *Bacillus* sp. Strain BAC4

Kethy Nadia Sepwinda, 2001. Pembimbing : Sylvia Soeng, dr.; Philips O., S.Si.,M.Si

Penggunaan antibiotika penisilin secara luas untuk mengobati penyakit infeksi bakteri, mengakibatkan timbulnya gejala resistensi. Gejala resistensi ini diakibatkan oleh adanya inaktivasi penisilin oleh enzim Penisilinase (β -laktamase). Salah satu usaha untuk mengatasi gejala tersebut adalah mencari antibiotika jenis baru turunan penisilin yang lebih efektif, yang dapat diperoleh dengan membuat penisilin semisintetik dengan perantara senyawa 6-Aminopenisilanat (6-MA). Pada penelitian ini telah dilakukan upaya mengamplifikasi gen pengkode Penisilin V Asilase pada *Bacillus* sp.strain BAC4 dengan menggunakan teknik PCR. DNA kromosom *Bacillus* sp. Strain BAC4 diisolasi, dilanjutkan dengan amplifikasi DNA kromosom tersebut menggunakan teknik PCR. Primer-primer yang digunakan dalam proses amplifikasi adalah primer Bact F1 (*Forward*): 5'- CCC ATA TGT **GCA** CAA GTC TTA CAT TGG AAA – 3', dan primer Uni B1 (*Reverse*): 3' – AAG GCC TTA ATT AAG CTC ATG AAT ACT CTC – 5' Siklus PCR yang dilakukan adalah : denaturasi pada suhu **94°C** selama 1 menit, *annealing* 40°-48°C selama 1-1,5 menit, dan *extension* 72°C selama 1-1,5 menit sebanyak 30-35 siklus. Tahap selanjutnya adalah elektroforesis untuk melihat hasil PCR dengan menggunakan gel agarosa 1,5%. Hasil senantiasa berupa *smear*. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa penelitian ini belum menghasilkan pita yang spesifik fragmen gen DNA dari *Bacillus* sp.strain BAC4. disarankan untuk dilakukan proses amplifikasi dengan primer-primer baru yang lebih spesifik dan dengan kondisi PCR yang lebih tepat.

ABSTRACT

***In vitro* Amplification of Coding Gene Penicillin V Acylase from *Bacillus* sp. Strain BAC4**

Kethy Nadia Sepwinda, 2001. Tutors : Sylvia Soeng, dr. ; Philips O., S.Si., M.Si.

*The extended use of penicillin to cure bacterial infection has resumed on resistance. This is due to the inactivation of penicillin by the enzyme Penicillinase (β - lactamase). One of the attempts to overcome the resistance is to find new penicillin derived antibiotics which are more effective, which can be obtained through the production of semisynthetic penicillin using 6 - aminopenicillanic acid (6 - APA) as the precursor. Effort to amplify PVA gene of *Bacillus* sp. Strain BAC4 using PCR technique has been performed. The steps were *Bacillus* sp. Strain BAC4 chromosomal DNA isolation, followed by amplification using PCR technique. Primers used in this process were Bact F1 (forward) : 5' - CCC ATA GCA CAA GTC TTA CAT TGG AAA] - 3', and Uni B1 (reverse): 3' -- AAG GCC TTA ATTAAG CTC ATG AAT ACT CTC - 5'. The PCR cycle was : denaturation at 94^oC, 1 minute, annealing at 40 - 48^oC, 1 - 1,5 minutes, and extension at 72^oC, 1-1,5 minutes, for 30 - 35 cycles. The next step was electrophoresis using agarose gel 1,5% to evaluate the PCR result. The results were always smears. It was concluded that the attempt to amplify the gene part using PCR technique has not been successful (no specific band). It was suggested to perform PCR using more specific primers and better PCR condition.*

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Halaman Pernyataan.....	iii
Abstrak.....	iv
Abstract	v
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Bab I. Pendahuluan	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
1.5. Metodologi Penelitian	3
1.6. Lokasi dan Waktu	4
Bab 11. Tinjauan Pustaka	
2.1. Penisilin	5
2.2. <i>Bacillus</i> sp. Strain BAC4	5
2.3. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	5
2.4. Elektroforesis	9
Bab 111. Metode Penelitian	
3.1. Isolasi DNA Kromosom <i>Bacillus</i> sp. Strain BAC4	11
3.2. Amplifikasi Gen Pengkode Penisilin V Asilase <i>Bacillus</i> sp. Strain BAC4	12
3.3. Elektroforesis Produk PCR	13
Bab IV. Hasil dan Pembahasan	
4.1. Isolasi DNA Kromosom <i>Bacillus</i> sp. Strain BAC4	14
4.2. Amplifikasi Gen Pengkode Penisilin V Asilase <i>Bacillus</i> sp. Strain BAC4	14
Bab V. Kesimpulan dan Saran	
5.1. Kesimpulan	17
5.2. Saran	17
Daftar Pustaka	18
Lampiran 1	20

Lampiran 2.. 22

Riwayat **Hidup**

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Kimia Penisilin	06
Gambar 4.1. Hasil PCR	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Lampiran Alat20
Lampiran 2	Lampiran Bahan22