



OPTIMASI METODE ISOLASI GEN *amyS* PENYANDI α -AMILASE DARI *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759

TASYA FITRIANI



DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Optimasi Metode Isolasi Gen *amyS* Penyandi α -Amilase dari *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2026

Tasya Fitriani
G8401221019

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

TASYA FITRIANI. Optimasi Metode Isolasi Gen *amyS* Penyandi α -Amilase dari *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759. Dibimbing oleh POPI ASRI KURNIATIN dan LAKSMI AMBARSARI.

Bakteri pembentuk endospora dikenal sebagai penghasil enzim termostabil, termasuk α -amilase termostabil yang banyak digunakan dalam industri berbasis pati. Sebanyak 60% produksi α -amilase dihasilkan oleh genus *Bacillus*. Namun, penggunaan bakteri native dalam industri membutuhkan energi besar, sehingga diperlukan teknologi DNA rekombinan. Penelitian ini bertujuan mengoptimasi proses isolasi gen meliputi isolasi DNA genom hingga konfirmasi urutan nukleotida gen *amyS* dari *B. paralicheniformis* ATCC 12759 melalui sekuensing Sanger. Gen α -amilase diisolasi menggunakan metode PCR dengan sepasang primer spesifik, yaitu *amyS_F1* (5'-ATGAAACAACACAAACGGC-3') dan *amyS_R1* (5'-CTATCTTGAACATAGATCGAAACC-3'). DNA genom menunjukkan hasil optimum setelah penambahan volume proteinase K, tanpa inkubasi setelah isopropanol, dan *buffer* TE bersuhu 25 °C untuk resuspensi DNA. Sementara itu, isolasi gen *amyS* tervisualisasikan dengan pita tunggal ukuran sekitar 1,5 kb pada konsentrasi cetakan DNA 25 ng dan suhu *annealing* 54,7 °C. Konfirmasi hasil amplifikasi gen menunjukkan urutan nukleotida memiliki tingkat kesamaan 100% dengan gen *amyS* referensi.

Kata kunci: α -amilase, *Bacillus paralicheniformis*, optimasi, PCR, sekuensing

ABSTRACT

TASYA FITRIANI. Optimization of the *amyS* Gene Isolation Method Encoding α -Amylase from *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759. Supervised by POPI ASRI KURNIATIN dan LAKSMI AMBARSARI.

Endospore-forming bacteria are recognized as producers of thermostable enzymes, including thermostable α -amylase which is widely used in starch-based industries. Approximately 60% of α -amylase production is derived from the genus *Bacillus*. However, the use of native bacteria in industrial applications requires high energy consumption; therefore, recombinant DNA technology is necessary. This study aimed to optimize the gene isolation process, from genomic DNA extraction to nucleotide sequence confirmation of the *amyS* gene from *B. paralicheniformis* ATCC 12759 through Sanger sequencing. The α -amylase gene was isolated using the PCR method with a pair of specific primers, namely *amyS_F1* (5'-ATGAAACAACACAAACGGC-3') and *amyS_R1* (5'-CTATCTTGAACATAGATCGAAACC-3'). Genomic DNA yielded optimum results following the addition of proteinase K, precipitation with cold isopropanol without an incubation, and dissolution using TE buffer at 25 °C. Meanwhile, isolation of the *amyS* gene was visualized as a single band of approximately 1,5 kb at a DNA template concentration 25 ng and an annealing temperature of 54,7 °C. Confirmation of the gene amplification product revealed that the nucleotide sequence exhibited 100% identity to the reference *amyS* gene sequence.

Keywords: α -amylase, *Bacillus paralicheniformis*, optimization, PCR, sequencing



@Hak cipta milik IPB University

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



OPTIMASI METODE ISOLASI GEN *amyS* PENYANDI α -AMILASE DARI *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759

TASYA FITRIANI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

- 1 Dr. dr. Husnawati, S.Ked., M.Si.
- 2 Ukhradiya Magharaniq Safira P, S.Si., M.Si.



@Hak cipta milik IPB University

Judul Skripsi : Optimasi Metode Isolasi Gen *amyS* Penyandi α -Amilase dari
Bacillus paralicheniformis ATCC 12759
Nama : Tasya Fitriani
NIM : G8401221019

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si.

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, MS.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP. 197709152005012002

Tanggal Ujian:
12 Juni 2026

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya tulis yang berjudul “Optimasi Metode Isolasi Gen *amyS* Penyandi α -Amilase dari *Bacillus paralicheniformis* ATCC 12759” berhasil disusun dan diselesaikan. Penyusunan karya ilmiah ini bertujuan memenuhi syarat kelulusan sebagai sarjana di Departemen Biokimia. Keberhasilan penulisan karya ilmiah ini tidak terlepas dari banyaknya dukungan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada berbagai pihak antara lain:

1. Bapak Sanusi dan Ibu Neneng Winangsih, orang tua dari penulis serta Iis Karmila selaku kakak perempuan yang senantiasa memberikan dukungan doa, semangat, dan finansial selama proses perkuliahan
2. Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si. dan Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, MS. selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan saran dan masukan terhadap seluruh proses penelitian dan penulisan karya ilmiah ini
3. Teman-teman seperjuangan yang telah menemani, memberikan dukungan dan doa selama melakukan perkuliahan dan penelitian, yaitu Ayu Balda, Annisa Warotsati, Arsanti Syahrazad, Annisa Fauziyah, Lulu Nabilah, Anida Prasetyaningrum, Nur Najmi Maulidia, dan Rubisco 59.
4. Staf laboratorium biokimia, CREBs Kabinet Cytochrome 2025, PPKU ST30, KKNT Rancamaya Banyumas 2025, dan teman-teman asisten praktikum yang senantiasa memberikan kesempatan belajar dan berkolaborasi sehingga penulis mampu sampai di tahap ini
5. Para peneliti di PPKS yang senantiasa memberikan pengalaman di bidang biologi molekuler dan membantu dalam kesulitan pelaksanaan penelitian

Penulis juga menyampaikan permohonan maaf atas segala kesalahan dan kekurangan penulisan dalam isi karya ilmiah ini. Kritik dan saran yang membangun senantiasa terbuka untuk penulis demi dorongan dan kebaikan di masa mendatang. Harapan penulis terhadap karya ilmiah yang telah dirancang ini adalah bermanfaat bagi penulis, pihak yang membutuhkan, pembaca pada umumnya, dan tentunya kemajuan bagi ilmu pengetahuan, khususnya di bidang ilmu biokimia.

Bogor, Juni 2026

Tasya Fitriani



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Amilase	3
2.2 <i>Bacillus paralicheniformis</i>	5
2.3 Produksi Enzim Secara Rekombinan	6
2.4 Isolasi DNA Genom	8
2.5 Primer	10
2.6 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	10
2.7 Sekuensing Sanger	12
III METODE	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Prosedur	14
IV HASIL	18
4.1 Kualitas Optimasi DNA Genom <i>Bacillus paralicheniformis</i>	18
4.2 Perancangan dan Seleksi Primer Spesifik	19
4.3 Optimasi Kondisi Amplifikasi PCR	21
4.4 Urutan Basa Nukleotida Gen <i>amyS</i>	22
V PEMBAHASAN	26
5.1 Analisis Optimasi Isolasi Genom <i>Bacillus paralicheniformis</i>	26
5.2 Evaluasi Perancangan Primer Spesifik Gen <i>amyS</i>	27
5.3 Identifikasi Gen <i>amyS Bacillus paralicheniformis</i>	29
5.4 Konfirmasi Gen dengan Sekuensing Sanger	30
VI SIMPULAN DAN SARAN	32
6.1 Simpulan	32
6.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	43
RIWAYAT HIDUP	50



DAFTAR TABEL

1	Sumber α -amilase termotabil	4
2	Kondisi optimasi isolasi DNA genom <i>Bacillus paralicheniformis</i>	15
3	Komposisi komponen dalam satu reaksi PCR	17
4	Siklus reaksi PCR	17
	Konsentrasi dan kemurnian gDNA <i>B. paralicheniformis</i>	18
5	Informasi aksesori sekuen genom DNA <i>B. paralicheniformis</i>	19
	Karakteristik kualitas primer berdasarkan analisis IDT	20
	Analisis similaritas urutan nukleotida gen <i>amyS</i> hasil sekuensing	25

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme katalitik α -amilase	4
2	Tahapan dalam pembuatan sel rekombinan	7
3	Metode isolasi DNA metode CTAB	9
4	Proses amplifikasi DNA dengan PCR	12
5	Tipe kromatogram hasil sekuensing	13
6	Elektroforegram gDNA <i>B. paralicheniformis</i> hasil modifikasi	18
7	Posisi primer pada sekuen genom DNA	19
8	Elektroforegram amplicon gen <i>amyS</i> variasi konsentrasi cetakan DNA	21
9	Elektroforegram amplicon gen <i>amyS</i> gradien temperatur	22
10	Elektroforegram amplicon gen <i>amyS</i> setelah proses optimasi	22
11	Data kromatogram hasil sekuensing gen <i>amyS</i>	23
12	Urutan nukleotida gen <i>amyS</i> hasil sekuensing (659 bp)	23
13	Posisi gen <i>amyS</i> hasil sekuensing dalam gen referensi	24
14	Pensejajaran urutan nukleotida gen hasil sekuensing dengan gen referensi	24

DAFTAR LAMPIRAN

1	Alur penelitian	45
2	Komposisi <i>buffer</i> dan reagen	46
3	Urutan asam amino hasil translasi	47
4	Pensejajaran urutan asam amino dengan asam amino referensi	48
5	Analisis similaritas urutan asam amino gen hasil sekuensing	49