



DETERMINASI TEMPERATUR *ANNEALING* OPTIMUM DAN UJI EFISIENSI PRIMER IFN TERHADAP PLASMID REKOMBINAN pNZ8148-IFN

MOCHAMAD ALDI FAUZIE



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2021**



@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 berjudul “Determinasi Temperatur *Annealing* Optimum dan Uji Efisiensi Primer IFN terhadap Plasmid Rekombinan pNZ8148-IFN” 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, April 2021

Mochamad Aldi Fauzie
G84150076



@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

MOCHAMAD ALDI FAUZIE. Determinasi Temperatur *Annealing* Optimum dan Uji Efisiensi Primer IFN terhadap Plasmid Rekombinan pNZ8148-IFN. Dibimbing oleh DJAROT SASONGKO HAMI SENO dan APON ZAENAL MUSTOPA.

Plasmid rekombinan pNZ8148-IFN merupakan plasmid pNZ8148 yang telah disisipkan dengan gen penyandi *human* interferon α -2b *codon optimized*. Plasmid pNZ8148-IFN telah digunakan sebagai vektor ekspresi untuk produksi protein rekombinan interferon α -2b pada *L. lactis* dan primer IFN yang spesifik terhadap gen tersebut telah didesain. Ekspresi protein ini ditentukan oleh jumlah plasmid pNZ8148-IFN dalam *L. lactis*, salah satu metode yang mampu mengkuantifikasikannya adalah metode qPCR. Kondisi optimum qPCR perlu dicapai karena untuk mengkuantifikasi jumlah plasmid perlu keakuratan dan presisi. Kondisi optimum tersebut sangat dipengaruhi oleh temperatur *annealing* PCR dan efisiensi PCR. Penelitian ini bertujuan mendeterminasi temperatur *annealing* optimum dan uji efisiensi primer IFN terhadap plasmid rekombinan pNZ8148-IFN. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah determinasi temperatur *annealing* optimum dengan PCR dan uji efisiensi PCR dengan *Quantitative* PCR. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa temperatur optimum PCR adalah 57°C dan efisiensi PCR sebesar 1.35. Temperatur *annealing* didapatkan masuk dalam kriteria yang baik yakni (57-60°C). Efisiensi PCR yang diperoleh (1.35) masih di luar kriteria yang baik (1.85-2.05).

Kata Kunci : Efisiensi PCR, Plasmid pNZ8148-IFN, Primer IFN, qPCR, Temperatur *Annealing*



ABSTRACT

MOCHAMAD ALDI FAUZIE. Determination of Optimum Annealing Temperature and IFN Primer Efficiency Test of pNZ8148-IFN Recombinant Plasmid (skripsi). Supervised by DJAROT SASONGKO HAMI SENO and APON ZAENAL MUSTOPA.

The recombinant plasmid of pNZ8148-IFN is a pNZ8148 plasmid that has been inserted with the human interferon α -2b codon optimized coding gene. pNZ8148-IFN plasmid was used as an expression vector for the production of the recombinant protein interferon α -2b in *L. lactis* and IFN primers specific to that gene have been designed. The expression of this protein is determined by the amount of pNZ8148-IFN plasmid in *L. lactis*, one of the methods capable of determining is qPCR. The optimum condition for qPCR needs to be achieved because the determination plasmid copy number must be accurate and precise. The optimum conditions are strongly influenced by the PCR annealing temperature and the PCR efficiency. This study was aimed to determine the optimum annealing temperature and test the efficiency of primer IFN against the recombinant plasmid pNZ8148-IFN. The method used in this research was the determination of the optimum annealing temperature with PCR and PCR efficiency test with Quantitative PCR. The results obtained showed that the optimum PCR temperature was 57°C and the PCR efficiency value was 1.35. The annealing temperature obtained was included in the good criteria (57-60°C). The efficiency of IFN primer obtained (1.35) was still outside the good criteria (1.85-2.05).

Keywords: Annealing Temperature, PCR Efficiency, Plasmid pNZ8148-IFN, Primer IFN, qPCR



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, tahun 2021
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 milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

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.

Perpustakaan IPB University

DETERMINASI TEMPERATUR *ANNEALING* OPTIMUM DAN UJI EFISIENSI PRIMER IFN TERHADAP PLASMID REKOMBINAN pNZ8148-IFN

MOCHAMAD ALDI FAUZIE

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
2021**



@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.

- 1 Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
- 2 Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si.

Judul Skripsi : Determinasi Temperatur *Annealing* Optimum dan Uji Efisiensi
Primer IFN terhadap Plasmid Rekombinan pNZ8148-IFN

Nama : Mochamad Aldi Fauzie

NIM : G84150076

Disetujui oleh

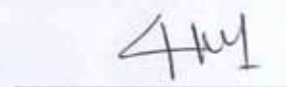
Pembimbing 1:

Dr. Drs. Djarot Sasongko Hami Seno, M.S



Pembimbing 2:

Dr. Apon Zaenal Mustopa, S.Pt., M.Si



Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia

Dr. Syamsul Falah, S.Hut, M.Si

NIP. 19700503 200501 1 001



Tanggal Ujian: 26 Maret 2021

Tanggal Lulus:



@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 dan syukur penulis ucapkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan April 2019 sampai bulan Januari 2020 ini ialah Temperatur *annealing* optimum dan Efisiensi PCR, dengan judul “Determinasi Temperatur *Annealing* Optimum dan Uji Efisiensi Primer IFN terhadap Plasmid Rekombinan pNZ8148-IFN”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Drs. Djarot Sasongko HS, M.S. sebagai pembimbing I dan Dr. Apon Zaenal Mustopa, S.Pt., M.Si. sebagai pembimbing II yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para pembimbing akademik, moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Endang Tri Margawati, M.Agr.Sc. dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia yang telah memberi izin penelitian, Ibu Lita Triratna, S.Pt, M.Si beserta staf laboratorium Ibu Mega Ferdina Warsito, S.Farm, M.Farm, Ibu Anika Prastyowati, M.Biotech, Ibu Maritsa Nurfatwa, M.Si dan kolega Ibu Nur, Pak Basoh, Bang Yugo, Mbak Lita, Mbak Cici, Mbak Stery, Sabiq, Akmal, Hasuri, Kak Taufik, Kak Sylvere, Faiz, Naufal, Mbak Rini, Mbak Mita, Mbak Ayu, Khadijah, dan Ibeng yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah dan ibu yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya dan teman seperjuangan program sarjana Biokimia angkatan 52, teman-teman asrama Sylvapius IPB, serta kolega yang lainnya yang tidak sempat disebut namun tidak mengurangi rasa hormat dan terima kasih penulis atas bantuannya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, April 2021

Mochamad Aldi Fauzie

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 mengumunkan 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.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 PCR	3
2.2 Primer	4
2.3 Temperatur <i>Annealing</i>	4
2.4 Efisiensi PCR	4
2.5 Plasmid Rekombinan pNZ8148-IFN	5
III METODE	6
3.1 Waktu dan Tempat	6
3.2 Alat dan Bahan	6
3.3 Prosedur Kerja	6
IV HASIL	9
4.1 DNA plasmid pNZ8148-IFN	9
4.2 Temperatur <i>Annealing</i> Optimum	9
4.3 Efisiensi PCR	10
V PEMBAHASAN	11
5.1 DNA plasmid pNZ8148-IFN	11
5.2 Temperatur <i>Annealing</i>	11
5.3 Efisiensi PCR	12
VI SIMPULAN DAN SARAN	12
6.1 Simpulan	12
6.2 Saran	12
DAFTAR PUSTAKA	13
LAMPIRAN	16
RIWAYAT HIDUP	22



DAFTAR TABEL

1 Formulasi PCR Determinasi Temperatur <i>Annealing</i> Optimum	7
2 Formulasi PCR Uji Efisiensi PCR	8

DAFTAR GAMBAR

1 Elektroforegram isolasi plasmid pNZ8148-IFN	9
2 Elektroforegram PCR plasmid pNZ8148-IFN	10
3 Pengaruh Konsentrasi DNA pNZ8148-IFN pada nilai C_T pada detektor mesin qPCR	10

DAFTAR LAMPIRAN

1 Bagan alir penelitian	17
2 Formulasi buffer resuspensi isolasi plasmid metode Duan	18
3 Formulasi buffer lisis isolasi plasmid metode Duan	18
4 Formulasi buffer penetral isolasi plasmid metode Duan	18
5 Data nilai sinyal terdeteksi C_T pada alat <i>Quantitative</i> PCR untuk determinasi efisiensi primer IFN	18
6 Data hasil qPCR untuk efisiensi primer IFN	19
7 Perhitungan efisiensi primer IFN	20