

JUDUL : Penapisan gen *cryI* dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)



Peneliti

Ketua :
Febriana Dwi Wahyuni, M,Si
Prodi Bioteknologi/Fakultas Ilmu-ilmu
Kesehatan Universitas Esa Unggul
febriana@esaunggul.ac.id

Anggota :
Dr. Henny Saraswati
Prodi Bioteknologi/Fakultas Ilmu-ilmu
Kesehatan Universitas Esa Unggul
hennysaraswati@esaunggul.ac.id

Anggota mahasiswa:
Nahdatul Fajriyati
Feby
Cindy Fransisca
Selvi Erna Pratiwi
Muhammad Amza



Ringkasan Eksekutif

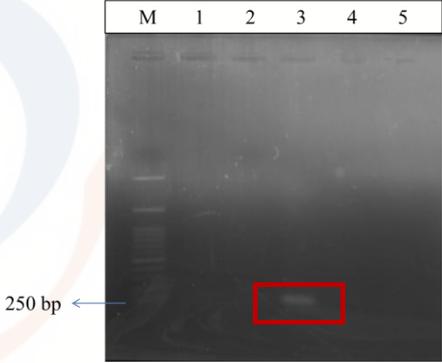
Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri yang menghasilkan protein kristal yang bersifat toksik terhadap serangga dan nematoda selama masa sporulasi. Keunggulan dari penggunaan bakteri ini sebagai biopestisida antara lain protein yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis* bersifat antiserangga spesifik dan disebut sebagai protein Cry. Protein Cry hanya bersifat toksik terhadap jenis serangga tertentu dan tidak toksik terhadap serangga yang berguna maupun terhadap organisme lain. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi gen *cryI* pada isolat lokal *B.thuringiensis* secara cepat dan akurat dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Adapun metode yang digunakan dalam penelitian ini antara lain perbanyakan isolat bakteri *B. thuringiensis*, isolasi genom *B. thuringiensis*, dan penapisan gen *cryI* dengan metode PCR. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai isolat-isolat *B. thuringiensis* yang mengandung gen *cryI* sehingga isolat tersebut dapat digunakan lebih lanjut, baik untuk keperluan rekayasa genetika maupun biopestisida. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa gen *cryI* berhasil diamplifikasi menggunakan primer spesifik *cry1* forward 5'- CGGTGAATGCC CTGTTACT-3' dan *cry1* reverse 5'- CGGTCTGGTTGCCTATTGAT - 3' dengan adanya pita DNA berukuran sekitar 250 pasang basa

Kata Kunci : skrining, *Bacillus thuringiensis*, gen *cryI*, PCR



HKI dan Publikasi

1. **Wahyuni FD**, Saraswati H, Dewi KS. 2020. In-Silico Analysis for *cryI* Gene Amplification from *Bacillus thuringiensis*. *Bioedukasi*. Vol 18(1): 8-14.
2. Seprianto, **Wahyuni FD**, Saraswati H, Pratiwi RA. 2020. In Silico Analysis for Detection of *CryII* Gene from Local Isolates of *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of the 1st International Conference on Health (ICOH 2019)*, pages 127-132
3. Desain Primer Secara In Silico Untuk Amplifikasi Gen *CryIII* Dari *Bacillus Thuringiensis* Isolat Lokal Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hak Cipta Karya Ilmiah. No. Sertifikat 000154228

 Latar Belakang	 Hasil dan Manfaat															
<p><i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) merupakan bakteri yang menghasilkan protein kristal yang bersifat toksik terhadap serangga dan nematoda selama masa sporulasi. Protein yang dihasilkan oleh <i>B. thuringiensis</i> bersifat antiserangga spesifik dan disebut sebagai protein Cry (dari kata <i>crystal</i>) atau disebut juga dengan nama δ-endotoksin. Berdasarkan perbedaan dalam untaian asam amino penyusunnya, telah diidentifikasi lebih dari 300 macam protein Kristal δ-endotoksin. Setiap jenis protein Cry bersifat toksik spesifik terhadap serangga atau nematoda tertentu. Introduksi gen <i>cry</i> ke dalam genom tanaman diharapkan tanaman tersebut mengekspresikan endotoksin yang dapat menyebabkan kematian serangga hama.</p> <p>Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi gen <i>cry1</i> pada isolat lokal <i>B.thuringiensis</i> secara cepat dan akurat dengan metode PCR. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai isolat-isolat <i>B. thuringiensis</i> yang mengandung gen <i>cry1</i> sehingga isolat tersebut dapat digunakan lebih lanjut, baik untuk keperluan rekayasa genetika maupun biopestisida.</p>	<p>Rancangan DNA Primer gen <i>cry1</i> dari <i>Bacillus thuringiensis</i> menggunakan software primer3 yang telah melewati proses BLAST dan multiple alignment (Tabel 1).</p> <p>Tabel 1. Hasil design primer untuk amplifikasi gen <i>cry1</i></p> <table border="1" data-bbox="770 504 1485 701"> <thead> <tr> <th>Primer (<i>cry1</i>)</th> <th>Sequence (5'-3')</th> <th>Tm (°C)</th> <th>GC %</th> <th>Self 3' complementarity</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Forward</td> <td>CGGTGAATGCC TGTTACT</td> <td>60</td> <td>50</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Reverse</td> <td>CGGTCTGGTTGC CTATTGAT</td> <td>60</td> <td>50</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table> <p>Hasil visualisasi DNA yang sudah diamplifikasi dengan primer <i>cry1</i> forward dan <i>cry1</i> reverse menunjukkan adanya pita DNA dengan ukuran sekitar 250 bp.</p>  <p>Gambar 1. Hasil elektroforesis amplifikasi gen <i>cry1</i></p> <p>Manfaat dari penelitian ini yaitu didapatkan gen <i>cry1</i> yang bisa digunakan untuk menambah pustaka genom. Selain itu nantinya bisa digunakan untuk introduksi ke dalam genom tanaman sehingga didapatkan tanaman yang tahan hama.</p>	Primer (<i>cry1</i>)	Sequence (5'-3')	Tm (°C)	GC %	Self 3' complementarity	Forward	CGGTGAATGCC TGTTACT	60	50	1	Reverse	CGGTCTGGTTGC CTATTGAT	60	50	2
Primer (<i>cry1</i>)	Sequence (5'-3')	Tm (°C)	GC %	Self 3' complementarity												
Forward	CGGTGAATGCC TGTTACT	60	50	1												
Reverse	CGGTCTGGTTGC CTATTGAT	60	50	2												
<p> Metode</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pencarian sekuen gen <i>cry1</i> melalui NCBI dilanjutkan dengan Blast dan multiple alignment untuk menentukan daerah conserve • Design primer untuk amplifikasi gen <i>cry1</i> • Analisis situs restriksi • Amplifikasi gen <i>cry1</i> dengan metode PCR • Elektroforesis hasil PCR 																
<p> Skema LITABMAS</p> <p>Penelitian ini merupakan bagian dari Hibah dari skema Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi</p>	<p> Ucapan terimakasih</p> <p>Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan dana untuk penelitian ini melalui Hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi untuk anggaran tahun 2019.</p>															

DAFTAR PUSTAKA

- Nair, K., Al-Thani, R., Al-Thani, D., Al-Yafei, F., Ahmed, T., & Jaoua, S. (2018). Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Qatar as shown by crystal morphology, δ -Endotoxins and Cry gene content. *Frontiers in Microbiology*, 9(APR), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00708>
- Suryanto, D. (2017). Amplifikasi gen Cry dan analisis genom isolat *Bacillus thuringiensis* lokal. *Journal of Biological Researches*, 15(1), 1–4. <https://doi.org/10.23869/bphjbr.15.1.20091>