

**PENERAPAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*
MENGUNAKAN PRIMER 16E1 DAN 16E2 UNTUK
MENDETEKSI *Escherichia coli* DALAM BERBAGAI SAMPEL
AIR**

ANGLIA PUSPANINGRUM

0304050082



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2008**

**PENERAPAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*
MENGUNAKAN PRIMER 16E1 DAN 16E2 UNTUK
MENDETEKSI *Escherichia coli* DALAM BERBAGAI SAMPEL
AIR**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

ANGLIA PUSPANGRUM

0304050082



DEPOK

2008

SKRIPSI : PENERAPAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION
MENGUNAKAN PRIMER 16E1 DAN 16E2 UNTUK
MENDETEKSI *Escherichia coli* DALAM BERBAGAI SAMPEL
AIR

NAMA : ANGLIA PUSPANINGRUM

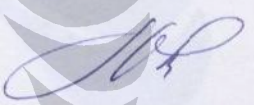
NPM : 0304050082

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008




DR. MAKSUM RADJI, M.BIOMED
PEMBIMBING I

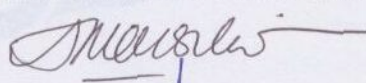
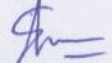
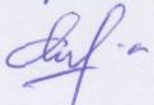

DR. ATIEK SOEMIATI, MS
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 21 Juli 2008

Penguji I : Dr. Amarila Malik, MS

Penguji II : Santi Purna Sari, M.Si

Penguji III : Dr. Berna Elya, MS

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

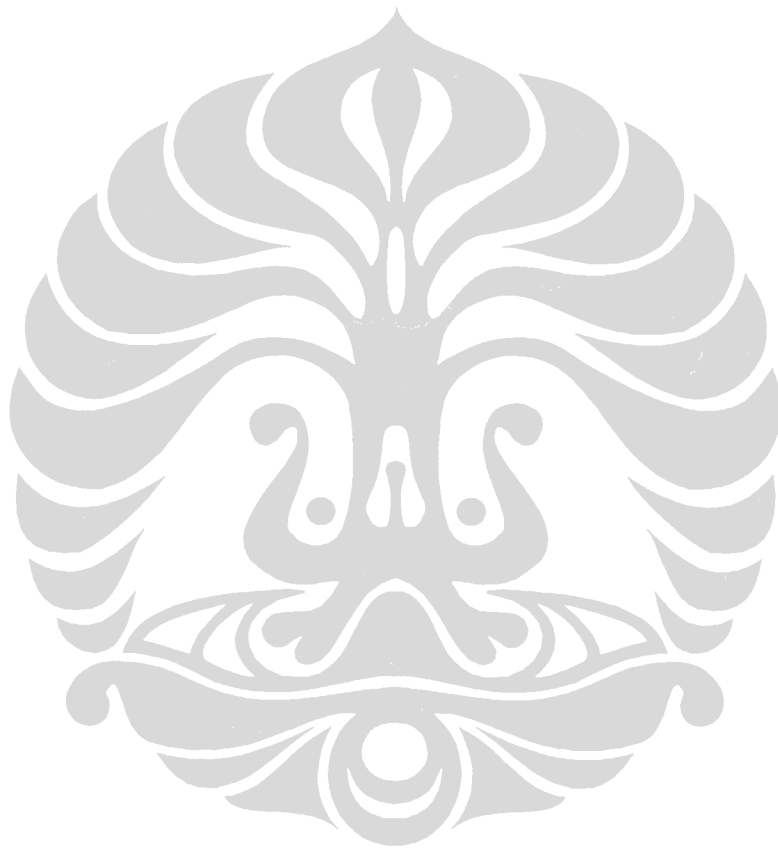
1. Bapak Dr. Maksum Radji, M. Biomed selaku pembimbing I dan Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, saran, ilmu, dan bantuan yang sangat bermanfaat dalam penelitian dan penyusunan skripsi, serta kesempatan dan fasilitas selama masa pendidikan berlangsung.
2. Ibu Dr. Atiek Soemiati, MS selaku pembimbing II dan Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, saran, ilmu, bantuan, kesempatan dan fasilitas yang sangat bermanfaat dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Amarila Malik, MSi atas bantuan yang telah diberikan selama penelitian dan atas bantuan dana penelitian yang telah diberikan.
4. Orang tua tercinta dan Ko Iwan yang selalu memberikan doa, dukungan moral dan finansial, perhatian, dan kasih sayang kepada penulis.

5. Fr. Lukas, SJ yang telah menjadi teman terbaik yang selalu setia menemani dan menjadi tempat menumpahkan segala rasa. Terima kasih atas waktu, tenaga, perhatian, dan kasih sayang yang telah kau berikan.
6. Alm. Bapak Drs. Harianto, SE, MKM dan Ibu Fadlina Chany Saputri S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat serta bimbingannya selama masa pendidikan.
7. Segenap staf pengajar, karyawan, laboran, serta satpam Departemen Farmasi, yang telah membantu penulis selama masa pendidikan, serta terutama kepada . Mba Catur dan Mas Tri sebagai laboran dan karyawan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama masa penelitian.
8. Ibu Lina dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UI dan Kak Tya atas saran yang telah diberikan sebelum dan selama penelitian.
9. Arum, Ajit, Tyas, Lili, Femi, Novi, Renita, Kiki, Widya, dan Yuyun yang telah menjadi teman berbagi suka dan duka selama penelitian. Terima kasih terutama kepada Luci, Oliph, Eci yang telah menjadi teman terbaik dan tempat berbagi selama kuliah. Semoga kita semua sukses dan menjadi teman sejati selamanya.
10. Teman-teman farmasi angkatan 2004 atas kebersamaannya selama ini. Semoga kita tetap dapat berkomunikasi walaupun sesudah lulus.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu yang telah memberikan bantuan sampai terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna perbaikan di masa datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan semua pihak yang memerlukan.

Penulis

2008



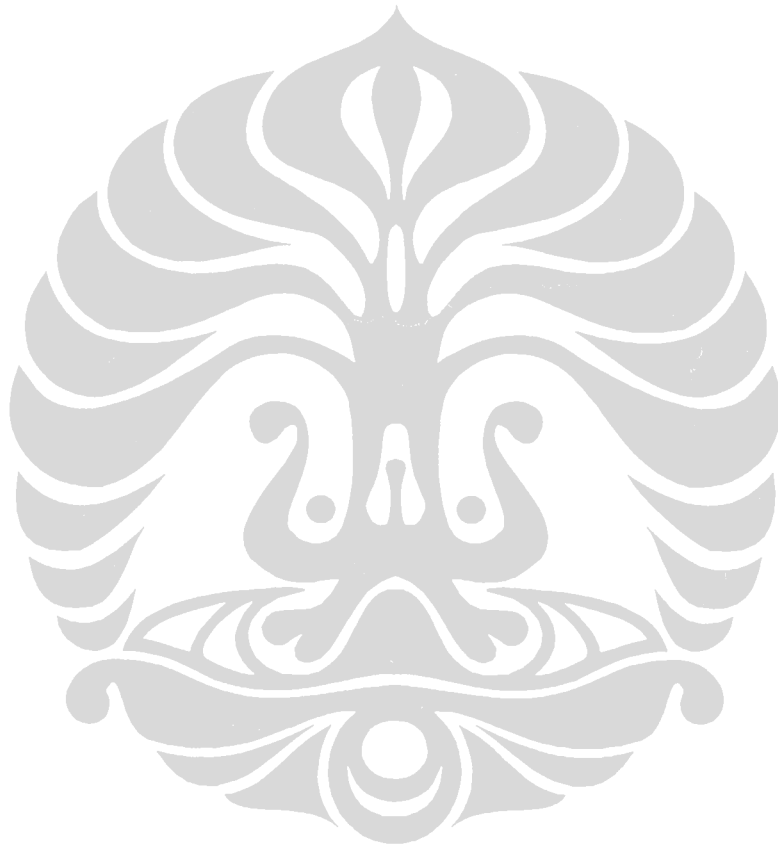
ABSTRAK

Air adalah komponen penting dalam kehidupan manusia. Namun, konsumsi air yang terkontaminasi kuman patogen dapat membahayakan manusia. Oleh karena itu, uji kualitas mikrobiologis air penting untuk dilakukan. *Escherichia coli* disebut sebagai organisme indikator karena *E. coli* adalah flora normal dalam saluran pencernaan manusia, sehingga keberadaannya dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses. Penelitian ini bertujuan untuk menerapkan metode *Polymerase Chain Reaction* menggunakan primer 16E1 dan 16E2 untuk mendeteksi adanya *Escherichia coli* dalam berbagai sampel air. DNA genomik *E. coli* diekstraksi menggunakan metode *boiling*, kemudian diamplifikasi menggunakan primer 16E1 dan 16E2. Hasil PCR positif *E. coli* ditunjukkan dengan adanya fragmen DNA pada ukuran sekitar 584 pb pada gel elektroforesis. Dalam penelitian ini juga dilakukan uji konfirmasi hasil PCR menggunakan metode konvensional. Sebanyak empat dari sepuluh sampel terbukti positif mengandung *E. coli*. *Escherichia coli* dapat diidentifikasi dengan metode PCR menggunakan primer 16E1 dan 16E2 dengan target gen penyandi 16S rRNA menghasilkan fragmen berukuran 584 pb pada gel elektroforesis. PCR dapat mendeteksi *E. coli* lebih cepat daripada metode konvensional.

Kata kunci: *Escherichia coli*; 16S rRNA; PCR; elektroforesis; deteksi konvensional

xii + 80 hlm; gbr; tab; lamp.

Bibliografi: 36 (1980-2007)



ABSTRACT

Water is an essential part in human life. However, consumption of water that is contaminated by pathogenic microbes can be hazardous to human. Therefore, it is important to do the water microbiological quality test. *Escherichia coli* is called indicator organism because *E. coli* is the normal flora in human's gastrointestinal tract, so its presence in water indicates that the water is contaminated by feces. The objective of this study is to apply the Polymerase Chain Reaction method using 16E1 and 16E2 primers to detect the presence of *Escherichia coli* in various water sample. The genomic DNA of *E. coli* was extracted using boiling method, and then amplified using 16E1 and 16E2 primers. *E. coli* positive PCR result was showed by DNA fragment sized 584 bp on gel electrophoresis. Confirmation test of PCR result was also done in this study using the conventional method. Four out of ten samples was proved *E. coli* positive. *E. coli* can be identified by PCR method using 16E1 and 16E2 primers with 16S rRNA gene as a target, produced fragment sized 584 bp on gel electrophoresis. PCR can detect *E. coli* faster than the conventional method.

Key word: *Escherichia coli*; 16S rRNA; PCR; electrophoresis; conventional detection

xii + 80 pages; figures; tables; appendixes

Bibliography: 36 (1980-2007)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. <i>Escherichia coli</i>	5
B. UJI KUALITAS AIR SECARA MIKROBIOLOGIS.....	8
C. 16S rRNA.....	11
D. <i>POLYMERASE CHAIN REACTION</i> (PCR).....	14
E. ELEKTROFORESIS GEL AGAROSA.....	21
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA.....	23
A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN.....	23
B. BAHAN.....	23

C. PERALATAN.....	25
D. CARA KERJA.....	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. HASIL PENELITIAN.....	32
B. PEMBAHASAN.....	33
BAB V. KESIMPULAN.....	46
A. KESIMPULAN.....	46
B. SARAN.....	46
DAFTAR ACUAN.....	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil elektroforesis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 yang diisolasi menggunakan CTAB dan diamplifikasi dengan PCR.....	52
2. Sampel <i>Escherichia coli</i> dalam gel agarosa.....	52
3. <i>Lactose Broth</i> positif dan negatif.....	53
4. BGLB positif.....	53
5. EMB positif dan negatif.....	54
6. Uji indol positif.....	54
7. Uji merah metil positif.....	55
8. Uji Voges-Proskauer negatif.....	55
9. Uji sitrat positif dan negatif.....	56
10. Nukleotida.....	56
11. Siklus amplifikasi PCR.....	57
12. Rumus bangun etidium bromida dan mekanisme kerjanya.....	58
13. Lokasi penempelan primer 16E1 dan 16E2 pada sekuens gen penyandi 16S rRNA.....	58
14. Lokasi pengambilan sampel di Kali Ciliwung.....	59
15. Lokasi pengambilan sampel 1.....	59
16. Lokasi pengambilan sampel 2.....	60
17. Lokasi pengambilan sampel 3.....	60

18. Lokasi pengambilan sampel 4.....	61
19. Lokasi pengambilan sampel 5.....	61
20. Lokasi pengambilan sampel 6.....	62
21. Lokasi pengambilan sampel 7.....	62
22. Lokasi pengambilan sampel 8.....	63
23. Lokasi pengambilan sampel 9.....	63
24. Lokasi pengambilan sampel 10.....	64
25. Sentrifus Kubota Tipe 6800.....	64
26. Inkubator 37°C.....	65
27. Mikrosentrifus berpendingin.....	65
28. Penangas kering.....	66
29. PCR Thermal Cyclers.....	66
30. Elektroforesis Gel.....	67
31. UV transilluminator.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil deteksi <i>Escherichia coli</i> dalam sampel air dengan metode PCR dan metode konvensional.....	69
2. Angka paling mungkin (Most Probable Number/MPN) menggunakan tiga tabung.....	70



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi dan Cara Pembuatan Media, Buffer, dan Perekasi.....	72
2. Spesifikasi Primer.....	76
3. Pemakaian Primer dalam Campuran PCR dan Perhitungan Pengenceran Primer.....	77
4. Skema Cara Kerja.....	79

