

DESAIN PRIMER DAN ANALISIS *IN SILICO* DENGAN CLUSTALW DAN MUSCLE UNTUK DETEKSI GEN PENYANDI L-ARABINOSA ISOMERASE (*araA*) PADA BAKTERI TERMOFILIK

Imam Bagus Nugroho

Dosen Pembimbing: Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

INTISARI

Pemanis rendah kalori, D-tagatosa, memiliki karakter kemanisan yang setara dengan sukrosa, namun menghasilkan kalori yang lebih rendah dalam proses metabolisme. Penggunaan D-tagatosa pada manusia dinyatakan aman sehingga gula ini dimasukkan dalam kategori senyawa *GRAS* (*Generally Recognized As Safe*). Pemanis ini dapat disintesis melalui proses isomerisasi yang dilakukan menggunakan katalis enzim L-arabinosa isomerase (L-AI) termostabil. Penggunaan L-arabinosa isomerase termostabil akan menghasilkan rendemen produk yang tinggi sehingga menyederhanakan proses purifikasi. Enzim L-AI termostabil dapat diisolasi dari bakteri termofilik, khususnya bakteri yang diisolasi dari kawah di Dataran Tinggi Dieng. Studi pendahuluan mengenai potensi bakteri termofilik ini sebagai penghasil L-AI termostabil, dilakukan dengan deteksi gen. Metode deteksi gen dilakukan melalui PCR yang menggunakan primer spesifik untuk mengamplifikasi gen penyandi L-AI termostabil (*araA*). Penelitian ini bertujuan untuk mendesain primer spesifik yang akan digunakan untuk mengamplifikasi gen penyandi L-AI termostabil dari bakteri termofilik yang diisolasi dari Kawah Sikidang Dieng. Desain primer didahului dengan *data mining* sekuens DNA dari *web* NCBI yang selanjutnya dimasukkan dalam program komputer untuk melakukan *alignment*. Pembuatan *alignment* dilakukan dengan dua algoritma, CLUSTALW dan MUSCLE, agar diketahui algoritma mana yang optimal. Selanjutnya, sekuens DNA dimasukkan dalam FastPCR untuk generasi primer, uji PCR *in silico* serta uji pengecekan karakter primer dengan OligoCalc. Hasil menunjukkan bahwa secara umum, dalam konteks penelitian ini CLUSTALW dan MUSCLE bersifat saling melengkapi dalam pembuatan *alignment*. Sementara itu, terdapat 4 pasang primer yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen *araA*. Melalui uji PCR *in silico* diketahui bahwa iaraAF1 dan iaraAR3 secara spesifik dapat digunakan untuk deteksi gen pada kelompok *Bacillus*.

Kata Kunci : Desain primer, CLUSTALW, MUSCLE, L-arabinosa isomerase

**PRIMER DESIGN AND IN SILICO ANALYSIS BY USING CLUSTALW
AND MUSCLE FOR L-ARABINOSE ISOMERASE GENE (*araA*)
DETECTION IN THERMOPHILIC BACTERIA**

Imam Bagus Nugroho
Advisor: Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

ABSTRACT

Low calorie sweetener, D-tagatose, has the sweet property comparable to sucrose. The usage of D-tagatose has been deemed as safe, hence D-tagatose is categorized as GRAS material. D-tagatose is synthesized through isomerization catalyzed by thermostable L-arabinose isomerase. The process yields high purity product, hence simplifying the need of purification. Thermostable L-AI can be isolated from thermophilic bacteria, especially from hot spring water source in Sikidang, Dieng Plateau. Exploitation of Sikidang isolates for thermostable L-AI sources, firstly can be conducted through gene detection. The method of gene detection involves PCR using specifically designed primer to amplify the targeted gene. This study was aimed to design primers which amplify specific target within *araA* gene. The steps involved data mining through NCBI, multiple sequence alignment using CLUSTALW and MUSCLE, primer generation and PCR *in silico* and primer property checking by using OligoCalc. The result showed that in the context of this study, CLUSTALW and MUSCLE works in conjunction with each other. There are 4 pairs of primers which could be deduced to amplify the targeted gene. PCR *in silico* showed that primers iaraAF1 and iaraAR3 are specifically proven to amplify the targeted gene from *Bacillus* group.

Keyword: Primer design, CLUSTALW, MUSCLE, L-arabinose isomerase