

EKSPRESI GEN *INO1* PADA KHAMIR *Wickerhamomyces anomalus* YANG TERPAPAR CEKAMAN ETANOL

AHMAD ZAHRANI PRADIPTHAWAN



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

@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



@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 “Ekspresi Gen *INO1* pada Khamir *Wickerhamomyces anomalus* yang Terpapar Cekaman Etanol” 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, Agustus 2024

Ahmad Zahrani Pradipthawan
NIM G3401201066

ABSTRAK

AHMAD ZAHRANI PRADIPTHAWAN. Ekspresi Gen *INO1* pada Khamir *Wickerhamomyces anomalus* yang Terpapar Cekaman Etanol. Dibimbing oleh RIKA INDRI ASTUTI dan IVAN PERMANA PUTRA.

Bioetanol merupakan salah satu sumber energi terbarukan yang dapat diproduksi oleh khamir melalui proses fermentasi. Namun, proses ini sering menghadapi tantangan berupa cekaman etanol yang dapat menghambat pertumbuhan sel khamir. Penelitian ini menganalisis tingkat ekspresi gen *INO1* pada *Wickerhamomyces anomalus* isolat BT2 dan BT5 dalam kondisi cekaman etanol untuk memahami mekanisme toleransi etanol pada khamir tersebut. Gen *INO1* menyandikan *myo-inositol-1-phosphate synthase* yang terlibat dalam toleransi khamir terhadap cekaman etanol. Validasi toleransi etanol dilakukan secara kualitatif menggunakan metode *spot test*, diikuti dengan analisis *reverse transcriptase-quantitative polymerase chain reaction* (RT-qPCR) untuk mengukur tingkat ekspresi gen *INO1*. Hasil *spot test* menunjukkan bahwa BT2 memiliki toleransi tertinggi terhadap etanol hingga konsentrasi 10%, diikuti oleh BT5 dan *S. cerevisiae* sebagai pembanding. Analisis RT-qPCR mengungkapkan bahwa ekspresi gen *INO1* pada BT2 meningkat hampir 14,3 kali lipat dalam kondisi cekaman etanol 10%, sementara BT5 dan *S. cerevisiae* mengalami penurunan ekspresi gen *INO1*. Hal ini menunjukkan bahwa toleransi etanol pada BT2 diduga diregulasi oleh gen *INO1*, sedangkan pada BT5 dan *S. cerevisiae* kemungkinan diregulasi oleh gen lain yang mempengaruhi kemampuannya untuk toleran terhadap cekaman etanol.

Kata kunci: Cekaman, etanol, gen *INO1*, RT-qPCR, *Wickerhamomyces anomalus*



ABSTRACT

AHMAD ZAHRANI PRADIPTHAWAN. The Expression of *INO1* Gene in *Wickerhamomyces anomalus* Yeast Exposed to Ethanol Stress. Supervised by RIKA INDRI ASTUTI and IVAN PERMANA PUTRA.

Bioethanol is a renewable energy source that can be produced by yeast through the fermentation process. However, this process often faces challenges such as ethanol stress which can inhibit yeast cell growth. This study analyzes the level of *INO1* gene expression in *Wickerhamomyces anomalus* isolates BT2 and BT5 under ethanol stress conditions to understand the ethanol tolerance mechanism in these yeasts. The *INO1* gene encodes myo-inositol-1-phosphate synthase, which is involved in yeast tolerance to ethanol stress. Ethanol tolerance validation was performed qualitatively using the spot test method, followed by reverse transcriptase-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) analysis to measure the level of *INO1* gene expression. Spot test results showed that BT2 had the highest tolerance to ethanol up to the concentration of 10%, followed by BT5 and *S. cerevisiae* as a comparison. RT-qPCR analysis revealed that *INO1* gene expression in BT2 increased nearly 14,3-fold under 10% ethanol, while BT5 and *S. cerevisiae* experienced a decrease in *INO1* gene expression. These results indicate that the *INO1* gene likely regulates ethanol tolerance in BT2, whereas in BT5 and *S. cerevisiae*, other genes are possibly responsible for regulating their ability to tolerate ethanol stress.

Keywords: Ethanol, *INO1* gene, RT-qPCR, stress, *Wickerhamomyces anomalus*

@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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin 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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
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.

EKSPRESI GEN *INO1* PADA KHAMIR *Wickerhamomyces anomalus* YANG TERPAPAR CEKAMAN ETANOL

AHMAD ZAHRANI PRADIPTHAWAN

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

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- 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

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

- 1 Dr. Rika Indri Astuti, S.Si., M.Si,**
- 2 Ivan Permana Putra, Ph.D.**
- 3 Prof. Dr. Ir. Tatik Chikmawati, M.Si.**

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.



IPB University
— Bogor Indonesia —



@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.



Judul Skripsi : Ekspresi Gen *INO1* pada Khamir *Wickerhamomyces anomalus*
yang Terpapar Cekaman Etanol

Nama : Ahmad Zahrani Pradipthawan

NIM : G3401201066

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Rika Indri Astuti, S.Si., M.Si.

Pembimbing 2:

Ivan Permana Putra, Ph.D.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Biologi:

Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si.

NIP 196507201991031002

Tanggal Ujian:
(19 Juli 2024)

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.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah yang dilaksanakan sejak bulan Januari 2024 hingga bulan Juni 2024. Tema penelitian yang diambil adalah Kemampuan toleransi etanol pada khamir dalam fermentasi bioetanol, dengan judul “Ekspresi gen *INO1* pada Khamir *Wickerhamomyces anomalus* yang Terpapar Cekaman Etanol”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penelitian ini, khususnya:

1. Dr. Rika Indri Astuti, S.Si., M.Si. dan Ivan Permana Putra, Ph.D. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan juga ilmunya selama penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini.
2. Prof. Dr. Ir. Tatik Chikmawati, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan koreksi pada penyusunan karya ilmiah ini.
3. Dr. Ir. Sulistijorini, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama menjalankan studi di Departemen Biologi IPB.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi IPB yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
5. Ibu Heni Rismiyati, Mas Aldi Permana, Ibu Dewi, Ibu Neneng, dan Mas Endan selaku staf laboratorium dan tenaga kependidikan yang telah banyak membantu dalam berlangsungnya penelitian ini.
6. Kak Ira, Kak Aldy, Kak Avel, Kak Nadhila, Kak Zulfa, Kak Nadira, Kak Maulida, Kak Ade, Bu Isra, Pak Asril, Mas Dian, Julita Catri Adila, Made Jefry, dan Indah Tasya Nabila selaku rekan laboratorium yang telah membantu dan memberi saran selama penelitian.
7. Agus Gunawan, S.T., M.Eng. selaku ayah penulis dan Herna Martha Ratnawati, S.E. selaku ibu penulis beserta keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi sarjana dengan baik.
8. Iqbal, Yosafat Dimas, Anandito, Intan Anggraeni, Aliya Nur Fadhilah, Elaeisa Azizah, Duhani, Ratu Salsabila, Kak Eric Verchius, serta seluruh teman dari Panthera Hugo (Biologi 57) atas dukungan dan kenangan berharganya selama penulis berkuliah di IPB.
9. Adhitya Rizky, Muhammad Fikri, Arya Diva, dan Bonanza Abi selaku sahabat penulis atas dukungan dan kenangan berharganya hingga karya ilmiah ini diselesaikan.
10. Ayli Rizkia, Theonaldo, Annisya, Irfan Yulviansyah, Yasmine, Azka, Farhan Rizqy, Yusuf Hidayat, dan Luthfi Rahman selaku teman-teman penulis dari SMAN 1 Bogor atas dukungan dan kenangan berharganya.

Bogor, Agustus 2024

Ahmad Zahrani Pradiptawan



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
METODE	3
2.1 Waktu dan Tempat	3
2.2 Alat dan Bahan	3
2.3 Prosedur Kerja	3
2.3.1 Peremajaan Isolat	3
2.3.2 Karakterisasi Morfologi Sel	3
2.3.3 Uji Cekaman Etanol	4
2.3.4 Isolasi RNA Total	4
2.3.5 Sintesis cDNA	4
2.3.6 Analisis Ekspresi Gen <i>INO1</i> dengan RT-qPCR	5
2.4 Analisis Data	5
III HASIL DAN PEMBAHASAN	6
3.1 Karakterisasi Morfologi Sel	6
3.2 Uji Cekaman Etanol	6
3.3 Isolasi RNA Total dan Sintesis cDNA	7
3.4 Analisis Ekspresi Gen <i>INO1</i> dengan RT-qPCR	9
IV SIMPULAN DAN SARAN	11
4.1 Simpulan	11
4.2 Saran	11
DAFTAR PUSTAKA	12
LAMPIRAN	15
RIWAYAT HIDUP	16

Hak cipta milik IPB University

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



DAFTAR TABEL

1	Primer yang digunakan untuk analisis RT-qPCR	5
2	Nilai konsentrasi dan kemurnian RNA yang diisolasi dari masing-masing isolat khamir pada perlakuan cekaman etanol 10% dan tanpa cekaman etanol (kontrol)	8
3	Nilai konsentrasi dan kemurnian cDNA dari masing-masing isolat khamir pada perlakuan cekaman etanol 10% dan tanpa cekaman etanol (kontrol)	9

DAFTAR GAMBAR

1	Karakteristik morfologi sel <i>W. anomalous</i> isolat BT2 (A) dan BT5 (B) yang diamati dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x, isolat khamir ditumbuhkan pada media YPDA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang	6
2	Uji toleransi khamir <i>W. anomalous</i> isolat BT2, BT5, dan <i>S. cerevisiae</i> (isolat pembanding) terhadap cekaman etanol berbagai konsentrasi menggunakan metode <i>spot test</i> dengan pengenceran serial yang diinkubasi selama 72 jam	7
3	Perbandingan ekspresi relatif gen <i>INO1</i> pada isolat khamir BT2, BT5, dan <i>S. cerevisiae</i> pada kondisi tanpa cekaman etanol (kontrol) dan kondisi cekaman etanol 10%, gen <i>TDH2</i> digunakan sebagai gen referensi	10

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.