



@Hak cipta milik IPB University

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.

PYOCYANIN ASAL BAKTERI LAUT *Pseudomonas aeruginosa* YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROB

DOVA KELVIN MESRIAN



PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024



@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 TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “*Pyocyanin* Asal Bakteri Laut *Pseudomonas aeruginosa* yang Berpotensi sebagai Antimikrob” 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 tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Oktober 2024

Dova Kelvin Mesrian
G3501221002

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.



RINGKASAN

DOVA KELVIN MESRIAN. *Pyocyanin* Asal Bakteri Laut *Pseudomonas aeruginosa* yang Berpotensi sebagai Antimikrob. Dibimbing oleh ARIS TRI WAHYUDI, RIKA INDRI ASTUTI, dan M. EKA PRASTYA.

Pyocyanin merupakan pigmen biru kehijauan yang diproduksi oleh 90-95% strain bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selain warnanya yang menarik, *pyocyanin* juga memiliki kemampuan bioaktivitas yang menjanjikan seperti antimikrob. Pencarian senyawa antimikrob masih menjadi urgensi dalam dunia kesehatan. Urgensi tersebut berkaitan dengan angka kematian akibat kasus resistansi mikrob patogen terhadap antibiotik yang terus meningkat. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menapis bakteri potensial sebagai produsen *pyocyanin*, mengarakterisasi *pyocyanin* yang diperoleh, dan menguji aktivitas *pyocyanin* tersebut sebagai antimikrob.

Penelitian diawali dengan peremajaan tujuh isolat bakteri pada media *Sea Water Complete* (SWC). Seluruh isolat dapat ditumbuhkan, namun menunjukkan perbedaan pada aspek pigmentasi. Pada media padat, satu isolat memiliki koloni berwarna biru kehijauan (P1.S9), empat isolat memiliki koloni berwarna hijau (P1.Z39, D2.Z12, D2.Z13, dan D2.Z15), dan dua isolat memiliki koloni berwarna putih (P1.S21 dan D2.Z14). Pigmentasi yang sama juga ditunjukkan pada kultur bakteri di media cair, perbedaannya hanya pada isolat P1.S21 dan D2.Z14 yang tidak menunjukkan ciri pigmentasi sehingga warna kultur tetap kuning seperti warna media awal. Setelah mengidentifikasi ciri koloni dan kultur, uji hemolisis pada *Sheep Blood Agar* (SBA) digunakan untuk mengetahui ciri patogenisitas isolat. Hasilnya, lima isolat teridentifikasi mempunyai kemampuan β -hemolisis (P1.S9, P1.Z39, D2.Z12, D2.Z13, dan D2.Z15) dan dua isolat teridentifikasi mempunyai kemampuan α -hemolisis (P1.S21 dan D2.Z14). Kedua aspek yang telah disampaikan sebelumnya, kemudian dilengkapi oleh analisis gen 16S rRNA dalam upaya penapisan lebih lanjut. Semua isolat teridentifikasi sebagai *P. aeruginosa*, kecuali D2.Z14 yang teridentifikasi sebagai *Alcaligenes faecalis*. Merujuk hasil pengamatan koloni dan kultur, uji hemolisis, dan analisis gen 16S rRNA, isolat P1.S21 dan D2.Z14 dieliminasi. P1.S21 dinilai tidak mampu menghasilkan *pyocyanin* berdasarkan ciri pigmentasi, sama dengan D2.Z14 yang selain tidak menunjukkan ciri pigmentasi juga tidak teridentifikasi sebagai *P. aeruginosa*.

Analisis gen 16S rRNA hanya terbatas hingga pengelompokan pada tingkat spesies. Analisis gen ini tidak dapat membedakan strain bakteri dalam spesies yang sama. Oleh karena itu, lima isolat tersisa dinilai karakter intraspesiesnya menggunakan metode *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction* (ERIC-PCR). Analisis pola ERIC-PCR yang diperoleh membagi kelima isolat menjadi lima strain yang berbeda. Pengelompokan ini menjadi dasar penggunaan kelima isolat pada tahap optimasi produksi *pyocyanin*.

Optimasi dibagi menjadi dua tahap. Tahap pertama fokus pada faktor isolat, jenis media, dan temperatur. Konsentrasi *pyocyanin* tertinggi yang diperoleh adalah $16,179 \pm 0,517 \mu\text{g/mL}$, dengan kombinasi perlakuan berupa isolat *P. aeruginosa* P1.S9 yang ditumbuhkan pada media King's A dan diinkubasi pada 27°C. Sementara itu, tahap kedua fokus pada komposisi media seperti sumber karbon, sumber nitrogen, dan sumber ion logam-garam anorganik. Pada tahap ini, isolat *P.*



aeruginosa P1.S9 dijadikan isolat tunggal, suhu inkubasi dipertahankan pada 27°C, dan media King's A digunakan sebagai acuan untuk menyusun perlakuan. Hasilnya, konsentrasi *pyocyanin* tertinggi yang diperoleh adalah $29,057 \pm 0,691 \mu\text{g/mL}$, dengan perlakuan berupa media King's A yang menggunakan pati sebagai sumber karbon. Berdasarkan hasil tahap optimasi, *P. aeruginosa* P1.S9 dipilih untuk didalami pada tahap berikutnya.

P. aeruginosa P1.S9 dijadikan isolat tunggal pada tahap analisis gen penyandi (*phzM* dan *phzS*) dan produksi ekstrak *pyocyanin*. Sekuens protein PhzM yang diperoleh dari hasil translasi gen *phzM* teridentifikasi sebagai *phenazine-1-carboxylate N-methyltransferase*, sedangkan protein PhzS yang diperoleh dari hasil translasi gen *phzS* teridentifikasi sebagai *flavin-dependent oxidoreductase*. Kedua protein tersebut adalah enzim yang bertanggung jawab di dua tahap terakhir pada jalur sintesis *pyocyanin*. Selain pensejajaran (*alignment*) sekuens dengan protein pada *database*, analisis lebih lanjut mengenai kedua protein tersebut juga didukung oleh pemodelan tiga dimensi, analisis superposisi, identifikasi domain, dan deteksi *fingerprint motif*. Berdasarkan hasil tersebut, secara molekuler *P. aeruginosa* P1.S9 dinilai mampu menghasilkan *pyocyanin*. Tahapan berikutnya adalah karakterisasi secara kimiawi ekstrak *pyocyanin* yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* P1.S9.

Ekstrak *pyocyanin* *P. aeruginosa* P1.S9 berwarna biru pekat dengan tekstur pasta. Karakterisasi ekstrak dilakukan dengan bantuan spektrofotometer UV-Visible (UV-Vis), *Fourier Transform Infrared* (FTIR), dan *Nuclear Magnetic Resonance* (¹HNMR). Hasil analisis UV-Vis menunjukkan tiga puncak spektrum pada posisi 279, 389, dan 522 nm; hasil analisis FTIR menunjukkan keberadaan beberapa gugus fungsi seperti O-H, C-H, C=N, C=C, C-N, dan C-H *bend*; sedangkan hasil analisis ¹HNMR menunjukkan keberadaan ikatan metil-nitrogen dan cincin aromatik sebagai penciri *pyocyanin*. Karakteristik tersebut sesuai dengan keterangan beberapa literatur yang digunakan sebagai rujukan untuk karakterisasi *pyocyanin*.

Terakhir, kemampuan antimikrob *pyocyanin* diuji dengan metode difusi cakram dan penentuan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Zona bening pada uji difusi cakram terbentuk melawan *Bacillus subtilis* ATCC 19659, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Sementara itu, nilai MIC terkuat adalah sebesar 62,5 $\mu\text{g/mL}$ melawan *B. subtilis* ATCC 19659.

Kata kunci: antimikrob, ERIC-PCR, *Pseudomonas aeruginosa*, *pyocyanin*, UV-Vis

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.



SUMMARY

DOVA KELVIN MESRIAN. Pyocyanin from Marine Bacteria *Pseudomonas aeruginosa* that Has Potential as Antimicrobial. Supervised by ARIS TRI WAHYUDI, RIKA INDRI ASTUTI, and M. EKA PRASTYA.

Pyocyanin is a blue-green pigment produced by 90-95% of *Pseudomonas aeruginosa* strains. Besides its attractive colour, pyocyanin also possesses promising biological activities such as antimicrobial. Efforts to find antimicrobial compounds are still a matter of urgency in the world of health. The urgency is related to the mortality rate due to antibiotic resistance of pathogens that continue to increase. Therefore, this study aims to screen a potential bacterium as pyocyanin producer, to characterize the pyocyanin obtained, and to test the antimicrobial activity of the pyocyanin.

The study began with the rejuvenation of seven bacterial isolates on Sea Water Complete (SWC). On SWC agar, all isolates could be grown but showed differences in the pigmentation aspect. One isolate had a blue-green colour (P1.S9), four isolates were green (P1.Z39, D2.Z12, D2.Z13, and D2.Z15), and two isolates were white (P1.S21 and D2.Z14). The same results were also obtained for the SWC broth, the difference was only shown by P1.S21 and D2.Z14 which did not have any pigmentation and still maintained the colour of the SWC broth. After identifying the morphological characteristics of the colonies and cultures, the haemolysis test using Sheep Blood Agar (SBA) was used to determine the isolates pathogenicity. As a result, five isolates were identified for having β -haemolysis ability (P1.S9, P1.Z39, D2.Z12, D2.Z13, and D2.Z15) and two isolates had α -haemolysis ability (P1.S21 and D2.Z14). Both aspects mentioned previously were then complemented by 16S rRNA gene analysis. All isolates were identified as *P. aeruginosa*, except D2.Z14 which was identified as *Alcaligenes faecalis*. According to isolates colonies and cultures characteristics, haemolysis test, and 16s rRNA gene analysis, P1.S21 and D2.Z14 were eliminated. P1.S21 was considered incapable of producing pyocyanin based on the pigmentation features on the media, similar to D2.Z14 which neither showed pigmentation characteristics nor identified as *P. aeruginosa*.

The 16S rRNA gene analysis is limited to the species level classification. The analysis is unable to distinguish bacterial strains within the same species. Therefore, the remaining five isolates were assessed for intraspecies characters using the Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR). The ERIC-PCR patterns thus divided the five isolates into five separated strains. This separation was the reason for using all five isolates in the optimization step of pyocyanin production.

Optimization was divided in two stages. The first stage focused on isolates, media, and temperature as parameters. The highest pyocyanin concentration obtained was $16,179 \pm 0,517 \mu\text{g/mL}$, with the treatment combination of isolate *P. aeruginosa* P1.S9 cultured in King's A medium and incubated at 27°C. Meanwhile, the second stage focused on the composition of media such as carbon sources, nitrogen sources, and metal ion-inorganic salt ion sources. In this stage, *P. aeruginosa* P1.S9 was used as a single isolate, the incubation temperature was kept at 27°C, and King's A medium was set as the baseline for the treatments. As a result,



the highest pyocyanin concentration obtained was $29,057 \pm 0,691 \mu\text{g/mL}$, with the treatment of King's A media that used starch as a carbon source. Based on the outcome of the optimization stage, *P. aeruginosa* P1.S9 was selected to be further investigated in the next stages.

P. aeruginosa P1.S9 was used as a single subject for the analysis of the encoding genes (*phzM* and *phzS*) and the production of pyocyanin extract. The PhzM protein sequence obtained from the translation of the *phzM* gene was identified as phenazine-1-carboxylate N-methyltransferase, while the PhzS protein obtained from the translation of the *phzS* gene was identified as flavin-dependent oxidoreductase. Both proteins are enzymes responsible in the last two stages of pyocyanin synthesis pathway. In addition to sequence alignment with the database, further analysis of both proteins was also supported by three-dimensional modelling, superposition analysis, domain identification, and fingerprint motif detection. Thus, *P. aeruginosa* P1.S9 was considered capable of producing pyocyanin molecularly. The subsequent step was to chemically characterize the pyocyanin extract produced by *P. aeruginosa* P1.S9.

The pyocyanin extract of *P. aeruginosa* P1.S9 was blue in colour with a paste texture. Characterization of the extract was carried out using UV-Visible spectrophotometer (UV-Vis), Fourier Transform Infrared (FTIR), and Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR). The UV-Vis analysis showed three peaks at 279, 389, and 522 nm; FTIR analysis showed the presence of several functional groups such as O-H, C-H, C=N, C=C, C-N, and C-H bend; while ^1H NMR analysis showed the presence of methyl-nitrogen bonds and aromatic rings as the pyocyanin markers. These characteristics are consistent with some literatures used as references for pyocyanin characterization.

Ultimately, the antimicrobial activity of pyocyanin was examined by the disc diffusion method and determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The zone of inhibition in the disc diffusion test was formed against *Bacillus subtilis* ATCC 19659, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Meanwhile, the strongest MIC value was $62,5 \mu\text{g/mL}$ against *B. subtilis* ATCC 19659.

Keywords: antimicrobial, ERIC-PCR, *Pseudomonas aeruginosa*, pyocyanin, UV-Vis



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.



@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.



PYOCYANIN ASAL BAKTERI LAUT *Pseudomonas aeruginosa* YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIMIKROB

DOVA KELVIN MESRIAN

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
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 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

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

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 Tesis : *Pyocyanin* Asal Bakteri Laut *Pseudomonas aeruginosa* yang Berpotensi sebagai Antimikrob
Nama : Dova Kelvin Mesrian
NIM : G3501221002

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Rika Indri Astuti, M.Si.

Pembimbing 3:
Dr. M. Eka Prastya, M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi Mikrobiologi
Prof. Dr. Anja Meryandini, M.S.
19620327 198703 2 001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Dr. Berry Juliandi, M.Si.
19780723 200701 1 001

Tanggal Ujian:
10 Oktober 2024

Tanggal Lulus:



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Agustus 2023 sampai bulan Agustus 2024 ini ialah peran metabolit sekunder bakteri dalam bidang kesehatan, dengan judul “Pyocyanin Asal Bakteri Laut *Pseudomonas aeruginosa* yang Berpotensi sebagai Antimikrob”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si., Dr. Rika Indri Astuti, M.Si., dan Dr. M. Eka Prastya, M.Si., Moderator seminar, Dr. Popi Asri Kurniatin, M.Si., dan penguji luar komisi pembimbing, Dr. Munti Yuhana, M.Si., yang telah membimbing dan banyak memberi saran selama penelitian dan penyelesaian tugas akhir penulis. Di samping itu, penghargaan juga disampaikan kepada seluruh staf laboratorium dan tenaga kependidikan di lingkungan Departemen Biologi IPB, yang telah banyak membantu selama pengumpulan data penelitian sampai pengurusan hal-hal administratif selama studi penulis. Kemudian, ungkapan terima kasih turut disampaikan kepada orangtua, Bapak Yan Andria dan Ibu Sri Yuldaningsih, Adik Christian Rivai, teman-teman program studi Mikrobiologi IPB angkatan 2022, dan semua pihak yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya.

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

Bogor, Oktober 2024

Dova Kelvin Mesrian



DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Resistansi Mikroorganisme terhadap Antibiotik	4
2.2 Mikroorganisme di Ekosistem Ekstrem	5
2.3 Mikroorganisme Asosiasi Spons	5
2.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan Pigmen yang Dihasilkan	6
2.5 Biosintesis dan Karakteristik Kimia Pigmen <i>Pyocyanin</i> Asal <i>P. aeruginosa</i>	7
2.6 Faktor Eksternal yang Memengaruhi Produksi Pigmen <i>Pyocyanin</i> Asal <i>P. aeruginosa</i>	8
2.7 Aktivitas Antimikrob Pigmen <i>Pyocyanin</i> Asal <i>P. aeruginosa</i> pada Bidang Kesehatan	9
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alur Penelitian	11
3.3 Alat dan Bahan	12
3.4 Prosedur Kerja	12
3.4.1 Uji Hemolisis Bakteri	12
3.4.2 Karakterisasi Koloni dan Kultur Bakteri	12
3.4.3 Isolasi DNA Genom Bakteri	12
3.4.4 Analisis Gen 16S rRNA	13
3.4.5 Identifikasi Profil Intraspecies Menggunakan ERIC-PCR	13
3.4.6 Optimasi Produksi <i>Pyocyanin</i>	13
3.4.7 Deteksi Gen <i>phzM</i> dan <i>phzS</i>	14
3.4.8 Analisis Protein <i>PhzM</i> dan <i>PhzS</i>	14
3.4.9 Karakterisasi Ekstrak <i>Pyocyanin</i> Menggunakan UV-VIS	15
3.4.10 Karakterisasi Ekstrak <i>Pyocyanin</i> Menggunakan FTIR	15
3.4.11 Karakterisasi Ekstrak <i>Pyocyanin</i> Menggunakan ¹ HNMR	15
3.4.12 Uji Antimikrob Menggunakan Metode Difusi Cakram	15
3.4.13 Penentuan Nilai <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)	15
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Hasil	17
4.2 Pembahasan	30
V SIMPULAN DAN SARAN	35



DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

Hak cipta milik IPB University

5.1 Simpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	46

- 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 Beberapa senyawa bioaktif asal <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2 Beberapa pigmen asal <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan bioaktivitasnya	7
3 Analisis sekuens nukleotida <i>phzM</i> dan <i>phzS</i> menggunakan BlastX	23

DAFTAR GAMBAR

1 Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2 Alur sintesis <i>pyocyanin</i>	8
3 Mekanisme <i>pyocyanin</i> dalam menumpuk ROS	10
4 Alur penelitian	11
5 Uji hemolisis	17
6 Karakteristik koloni isolat yang digunakan	18
7 Karakteristik kultur isolat yang digunakan	18
8 Pohon filogenetik isolat yang digunakan	19
9 Profil intraspesies lima isolat terpilih	20
10 Pohon fenetik hasil perbandingan pola sekuens hasil ERIC-PCR	20
11 Hasil optimasi produksi <i>pyocyanin</i> tahap pertama	21
12 Hasil optimasi produksi <i>pyocyanin</i> tahap kedua	22
13 Pita hasil amplifikasi gen <i>phzM</i> dan <i>phzS</i>	23
14 Model tiga dimensi protein PhzM dan analisis superposisi	24
15 Prediksi susunan domain PhzM	24
16 Deteksi <i>fingerprint motif</i> PhzM	25
17 Model tiga dimensi protein PhzS dan analisis superposisi	26
18 Prediksi susunan domain PhzS	26
19 Deteksi <i>fingerprint motif</i> PhzS	27
20 Karakterisasi ekstrak <i>pyocyanin</i>	28
21 Uji antimikrob <i>pyocyanin</i> dengan metode difusi cakram	29
22 Penentuan nilai MIC <i>pyocyanin</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

1 Komposisi beberapa media yang digunakan	47
2 Hasil isolasi genom isolat yang digunakan	48
3 Sekuens gen 16S rRNA isolat yang digunakan	48
4 Sekuens biner hasil analisis pola pita ERIC-PCR	52
5 Kultur hasil perlakuan optimasi tahap pertama (variabel uji isolat, media, dan temperatur)	53
6 Kultur hasil perlakuan optimasi tahap kedua (variabel uji nutrien)	54
7 Sekuens asam amino hasil translasi gen <i>phzM</i> <i>P. aeruginosa</i> P1.S9	54
8 Sekuens asam amino hasil translasi gen <i>phzS</i> <i>P. aeruginosa</i> P1.S9	54
9 Karakteristik ekstrak <i>pyocyanin</i> asal <i>P. aeruginosa</i> P1.S9	55