

SKRINING MIKROBA PENGHASIL TRANSGLUTAMINASE (MTGase) DARI ISOLAT *ACTINOBACTERIA* LAUT ASAL LAUT FLORES

FAHRY RUSLAN SUJAKTI



DEPARTEMEN BIOKIMIA
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

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “ Skrining Mikroba Penghasil Transglutaminase (MTGase) dari Isolat *Actinobacteria* Laut asal Laut Flores” 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 dan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Bogor, Juni 2024

Fahry Ruslan Sujakti
G8401201108



@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

ABSTRAK

FAHRY RUSLAN SUJAKTI. Skrining Mikroba Penghasil Transglutaminase (MTGase) dari Isolat *Actinobacteria* Laut asal Laut Flores. Dibimbing oleh POPI ASRI KURNIATIN dan DEWI SESWITA ZILDA.

Mikroba transglutaminase (MTGase) merupakan enzim yang banyak dimanfaatkan dalam industri pengolahan pangan karena memiliki keunggulan dibanding transglutaminase dari sumber lain. Salah satu mikroba yang potensial menghasilkan MTGase adalah *Actinobacteria*. Penapisan bakteri penghasil MTGase dari isolat *Actinobacteria* laut asal Laut Flores dilakukan untuk memperoleh isolat yang potensial menghasilkan MTGase. Penapisan *Actinobacteria* penghasil MTGase berdasarkan uji *filter paper disk* (FPD) yang dilanjutkan dengan penapisan gen pengkode transglutaminase dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil positif dari uji FPD didapat dengan mengamati perubahan warna pada *paper disk* menjadi kecokelatan, dimana 10 dari 110 isolat positif MTGase. Uji PCR dilakukan dengan amplikasi gen pengkode MTGase dengan menggunakan primer forward PTGase4 dan primer reverse PTGase5. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya pita positif gen pengkode MTGase pada ~400bp, dimana dari 9 dari 10 isolat memiliki gen pengkode MTGase. Sekuens gen parsial TGase pada salah satu isolat *Actinobacteria*, yaitu MAF23-24 menunjukkan adanya domain konservasi transglutaminase dan sebagian besar basa nukleotida yang lestari pada gen *TGase* dari *genbank*.

Kata kunci: *Actinobacteria* laut, FPD, Laut Flores, MTGase, PCR.

ABSTRACT

FAHRY RUSLAN SUJAKTI. Screening of Microbial Transglutaminase (MTGase)-producing from Marine *Actinobacteria* Isolates from Flores Sea. Supervised by POPI ASRI KURNIATIN and DEWI SESWITA ZILDA.

Microbial transglutaminase (MTGase) is an enzyme that is widely used in the food processing industry because it has advantages over transglutamines from other sources. One of the potential microbes to produce MTGase is *Actinobacteria*. Screening of MTGase-producing bacteria from marine *Actinobacteria* isolates from Flores Sea was carried out to obtain isolates that have the potential to produce MTGase. Screening of MTGase-producing *Actinobacteria* based on the filter paper disk (FPD) test followed by screening of the transglutaminase coding gene by Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Positive results from the FPD test were obtained by observing the color change on the paper disk to brownish, there were 10 out of 110 MTGase positive isolates. PCR test was performed by amplifying the MTGase coding gene using forward primer PTGase4 and reverse primer PTGase5. Positive results were indicated by the appearance of a positive band of the MTGase coding gene at ~400bp, there were 9 out of 10 isolates had the MTGase coding gene. The partial TGase gene sequence of one of the *Actinobacteria* isolates, MAF23-24, showed the presence of a transglutaminase conserved domain and most of the nucleotide bases were conserved in the *TGase* gene from the *genbank*.

Keywords: Flores Sea, FPD, marine *Actinobacteria*, MTGase, PCR.



@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, tahun 2024¹
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.

SKRINING MIKROBA PENGHASIL TRANSGLUTAMINASE (MTGase) DARI ISOLAT *ACTINOBACTERIA* LAUT ASAL LAUT FLORES

FAHRY RUSLAN SUJAKTI

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

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
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.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

□ Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.

□ Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si.

Perpustakaan IPB University

Judul Skripsi : Skrining Mikroba Penghasil Transglutaminase (MTGase) dari isolat *Actinobacteria* laut asal Laut Flores

Nama : Fahry Ruslan Sujakti
NIM : G8401201108

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si, Apt., M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Dewi Seswita Zilda, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP 197709152005012002



Tanggal Ujian:
30 Juli 2024

Tanggal Lulus:



@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



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 Januari 2024 sampai bulan April 2024 ini ialah skrining mikroba enzim dengan judul “Skrining mikroba penghasil transglutaminase (MTGase) dari isolat *Actinobacteria* laut asal Laut Flores”.

Penulis menyadari bahwa tanpa adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, penyelesaian skripsi ini tidak akan rampung, oleh karena itu, dengan ketulusan dan kerendahan hati penulis ucapkan terima kasih kepada kedua orang tua, Ibu Royanah dan Bapak Suyitno atas doa, kasih sayang, dan dukungannya dalam setiap proses perjalanan panjang hidup penulis. Menjadi suatu kebanggaan memiliki kedua orang tua yang sangat mendukung dan menyayangi anaknya. Kehadiran kalian menjadi motivasi besar bagi penulis.

Penulis sampaikan terima kasih kepada Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si. selaku dosen pembimbing I yang telah membantu dan membimbing penulis dalam proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas ilmu dan masukan yang penulis terima selama ini. Dr. Dewi Seswita Zilda, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memfasilitasi penulis untuk mengeksplorasi lebih, dalam proses penelitian. Ilmu dan relasi yang penulis dapatkan akan sangat bermanfaat kedepannya. Dr. Ariani Hatmanti, M.Si. selaku pembimbing magang yang telah memberikan kesempatan, ilmu, dan pengalaman yang sangat berharga selama ini. Penulis menjadi sangat menikmati dan bersemangat untuk mengeksplorasi lebih, terutama terkait actinomycetes.

Terima kasih penulis sampaikan juga kepada Alm. Dr. Ir. A. E. Zainal Hasan, M.Si. selaku dosen penggerak sekaligus pembimbing penulis yang tanpanya, penulis tidak akan mendapatkan kesempatan dan pengalaman berharga ini. Terima kasih juga kepada para peneliti, teknisi, Prof. Ekowati, dan para pegawai Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah membantu dan menciptakan suasana yang mendukung untuk penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Terima kasih juga Kakak-kakak tercinta Ayu, Putri, dan Pipi, serta keluarga besar Mbah Ni Mbah No yang telah mendukung dan senantiasa mendoakan penulis dalam kelancaran penyusunan skripsi ini. Tak lupa juga, terima kasih penulis sampaikan kepada sahabat, teman, dan orang terdekat yang telah membantu hingga rampungnya skripsi ini.

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

Bogor, Juni 2024

Fahry Ruslan Sujakti



@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.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Mikroba Transglutaminase (MTGase)	3
2.2 <i>Actinobacteria</i> laut	5
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Prosedur Kerja	8
3.4 Analisis Data	10
IV HASIL	11
4.1 Penapisan <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase	11
4.2 Karakteristik Isolat <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase	12
4.3 Kualitas DNA <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase	13
4.4 Amplifikasi Gen Pengkode Transglutaminase	14
4.5 Sekuens Gen Pengkode Transglutaminase	15
V PEMBAHASAN	17
5.1 Penapisan <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase Uji FPD	17
5.2 Karakteristik Isolat <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase	18
5.3 Kualitas DNA <i>Actinobacteria</i> Penghasil Transglutaminase	19
5.4 Penapisan Gen Pengkode Transglutaminase	20
5.5 Sekuens Parsial Gen Pengkode <i>TGase</i> MAF23-24	21
VI SIMPULAN DAN SARAN	23
6.1 Simpulan	23
6.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	29
RIWAYAT HIDUP	41



DAFTAR TABEL

1	Metode isolasi <i>Actinobacteria</i> laut	6
2	Data titik pengambilan sampel air laut asal Laut Flores	9
3	Penapisan <i>Actinobacteria</i> penghasil transglutaminase	12
4	Karakteristik isolat <i>Actinobacteria</i> penghasil transglutaminase	13
5	kualitas DNA <i>Actinobacteria</i> penghasil transglutaminase	13
6	Conserved domain sekuen MAF23-24	15
7	Kesejajaran blast gen parsial <i>TGase</i> MAF23-24	15

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme kerja <i>cross-linking</i> transglutaminase	3
2	Molekul MTGase tampak depan (kiri) dan sisi aktif (kanan)	4
3	Peta titik pengambilan sampel	9
4	Perubahan warna yang terjadi pada penapisan <i>Actinobacteria</i> penghasil transglutaminase	11
5	Visualisasi amplifikasi gen isolat penghasil MTGase	14
6	Visualisasi amplifikasi gen isolat penghasil MTGase (purifikasi)	14
7	Sekuens nukleotida gen parsial <i>TGase</i> isolat MAF23-24	15
8	MSA gen parsial <i>TGase</i> MAF23-24	16
9	Reaksi kompleks hidoksamat yang dikatalisis transglutaminase	17
10	Struktur beberapa genus <i>Actinobacteria</i>	20

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	30
2	Komposisi media yang digunakan	30
3	Perhitungan pembuatan reagen uji FPD	31
4	Hasil uji FPD	33
5	Domain Konservasi gen parsial <i>TGase</i> MAF23-24	40