

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**DETEKSI DAN ANALISIS GEN TERKAIT BIOSINTESIS
RHAMNOLIPID (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) PADA
Pseudomonas aeruginosa STRAIN UA**

SKRIPSI



UMMI AMALIATUSH SHOLICAH PUTRI MERDEKAWATI

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

**DETEKSI DAN ANALISIS GEN TERKAIT BIOSINTESIS
RHAMNOLIPID (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) PADA
Pseudomonas aeruginosa Strain UA**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Ummi Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati

NIM 081911433018

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Ni'matuzahroh
NIP. 196801051992032003

Pembimbing II,



Almando Gerald, S.Si., Ph.D.
NIP. 198704212018093101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Deteksi dan Analisis Gen Terkait Biosintesis
Rhamnolipid (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) pada
Pseudomonas aeruginosa Strain UA

Penulis : Ummi Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati

NIM : 081911433018

Tanggal seminar : 3 Januari 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Ni'matuzahroh
NIP. 196801051992032003

Pembimbing II,



Almando Gerald, S.Si., Ph.D.
NIP. 198704212018093101

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.
NIP. 196602241992032001

iii

SKRIPSI

DETEKSI DAN ANALISIS...

UMMI AMALIATUSH

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penulis dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan **hak milik Universitas Airlangga**.

SURAT PENYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawa ini, saya:

Nama : Ummi Amalitush Sholichah Putri Merdekawati

NIM : 081911433018

Program Studi : Biologi

Jenjang : S1 (Sarjana)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan skripsi

**DETEKSI DAN ANALISIS GEN TERKAIT BIOSINTESIS
RHAMNOLIPID (*rhIA*, *rhIB*, *rhIC*, dan *rhIR*) PADA
Pseudomonas aeruginosa Strain UA**

Apabila suatu saat terbukti melakukan plagiat, maka saya menerima sanksi yang telah ditetapkan

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya

Surabaya, 4 Januari 2023



Ummi Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati
NIM. 081911433018

Umami Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati, 2022, **Deteksi dan Analisis Gen Terkait Biosintesis Rhamnolipid (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) pada *Pseudomonas aeruginosa* Strain UA**, Skripsi ini dibawah bimbingan Dr. Nimatuzahroh dan Almando Gerald, S. Si., Ph. D., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Rhamnolipid adalah biosurfaktan yang memiliki peran di bidang bioremediasi. Rhamnolipid dapat disintesis oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *P. aeruginosa* strain UA adalah bakteri yang diisolasi dari lumpur yang tercemar tumpahan minyak. *P. aeruginosa* UA diharapkan memiliki enzim dan protein yang lebih unggul daripada *P. aeruginosa* yang lain karena dapat hidup di lumpur berminyak. Karena *P. aeruginosa* UA merupakan bakteri patogen, maka perlu dilakukan pembentukan strain rekombinan penghasil rhamnolipid yang lebih aman. Sebagai langkah awal pembuatan strain rekombinan, perlu dilakukan deteksi dan analisis gen terkait sintesis rhamnolipid (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) oleh *P. aeruginosa* UA. Deteksi dilakukan dengan metode Polymerase Chain Reaction yang akhirnya akan divisualisasikan dengan elektroforesis. Analisis hasil sequencing dilakukan menggunakan software Bioedit, BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), dan UniProt. Hasil BLAST basa nukleotida gen *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR* berturut-turut menunjukkan tingkat homologi sebesar 99.29%, 99.91%, 96.92 % dan 99.86% dengan gen penyandi *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR* *P. aeruginosa* PAO1 (Genbank, accession number CP053028.1 REGION 1622839...1623684; CP053.028.1 REGION 1623872...1624994; CP053.028.1 REGION 4292861...4293673; CP053.028.1 REGION 1625196...1625892). Sedangkan hasil BLAST protein hasil translasi gen *rhlA*, *rhlB*, *rhlR*, *P. aeruginosa* UA memiliki kesamaan sebesar 100% dengan protein dari translasi gen *rhlA*, *rhlB*, dan *rhlR* *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank, accession number: WP_003092013.1; WP_003092007; WP_003119559.1). Sedangkan protein hasil translasi gen *rhlC* *P. aeruginosa* UA memiliki kesamaan sebesar 97.69% dengan hasil translasi gen *rhlC* *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank, accession number WP_003112489.1). Berdasarkan analisis menggunakan NCBI Conserved Domain Search dan UniProt, dikonfirmasi bahwa gen *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR* adalah enzim 3-(3-hydroxydecanoyloxy) dekanat sintase, Rhamnosiltransferase rantai B, Rhamnosiltransferase, dan *transcriptional regulator* RhlR yang termasuk ke famili Alfa/beta hidrolase, Glikosiltransferase, dan Regulator transkripsional.

Kata kunci: *P. aeruginosa* UA, rhamnolipid, deteksi gen, bioinformatika, BLAST, UniProt.

Umami Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati, 2022, **Detection and Analysis of Genes Related to Rhamnolipid Biosynthesis (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, and *rhlR*) in *Pseudomonas aeruginosa* Strain UA**, This study was conducted under guidance of Dr. Nimatuzahroh and Almando Geraldi, S.Si., Ph.D., Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

Rhamnolipid is a biosurfactant that has a role in the field of bioremediation. Rhamnolipids can be produced by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *P. aeruginosa* strain UA is a bacterium isolated from mud contaminated with oil spills. *P. aeruginosa* UA is expected to have superior enzymes and proteins than other *P. aeruginosa* because it can live in oily mud. Because *P. aeruginosa* UA is a pathogenic bacterium, it is necessary to establish a safer rhamnolipid-producing recombinant strain. As a first step in making recombinant strains, it is necessary to detect and analyze genes related to the synthesis of rhamnolipids (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, and *rhlR*) by *P. aeruginosa* UA. Detection was carried out using the Polymerase Chain Reaction method which will finally be visualized by electrophoresis. Analysis of the sequencing results was performed using Bioedit software, BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), and UniProt. The BLAST results of the nucleotide bases for the *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, and *rhlR* genes respectively showed homology levels of 99.29%, 99.91%, 96.92% and 99.86% with the genes encoding *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, and *rhlR* *P. aeruginosa* PAO1 (Genbank, accession CP053028.1 REGION 1622839...1623684; CP053.028.1 REGION 1623872...1624994; CP053.028.1 REGION 4292861...4293673; CP053.028.1 REGION 1625196...1625892). Whereas the BLAST results of the translational proteins of the *rhlA*, *rhlB*, *rhlR*, *P. aeruginosa* UA genes have a 100% similarity with the proteins from the translation of the *rhlA*, *rhlB*, and *rhlR* genes of *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank, accession number: WP_003092013.1; WP_003092007; WP_003119559 .1). Meanwhile, the translated protein of the *rhlC* gene of *P. aeruginosa* UA has a similarity of 97.69% with the translation of the *rhlC* gene of *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank, accession number WP_003112489.1). Based on analysis using NCBI Conserved Domain Search and UniProt, it was confirmed that the genes *rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, and *rhlR* are enzymes 3-(3-hydroxydecanoyloxy) dekanooat sintase, Rhamnosyltransferase chain B, Rhamnosyltransferase, and transcriptional regulator RhIR belonging to the Alpha/beta family hydrolases, glycosyltransferases, and transcriptional regulators.

Keywords: *P. aeruginosa* UA, rhamnolipid, gene detection bioinformatics, BLAST, UniProt.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan kuasa dan rahmat-Nya sehingga penulis diberi kesempatan untuk dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Deteksi dan Analisis Gen Terkait Biosintesis Rhamnolipid (*rhlA*, *rhlB*, *RhlC*, dan *rhlR*) pada *Pseudomonas aeruginosa* Strain UA”.

Penulisan naskah skripsi ini bertujuan untuk memberi wawasan dan memperluas ilmu pengetahuan, serta merupakan prasyarat untuk lulus dari program Strata-1 (S1) jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga Surabaya. Semoga kedepannya, naskah skripsi ini dapat dijadikan landasan untuk penelitian berikutnya, serta memberikan inovasi seputar sintesis rhamnolipid di inang yang lebih aman

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa naskah skripsi yang telah disusun ini memiliki banyak kekurangan dan tidak sempurna. Oleh sebab itu, saran dan kritik yang membangun dari berbagai pihak sangat diharapkan untuk melakukan perbaikan di kemudian hari. Semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan berguna bagi semua pihak yang membaca.

Surabaya, 5 Januari 2023

Penulis

Umami Amaliatush Sholichah Putri Merdekawati

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Deteksi dan Analisis Gen Terkait Biosintesis Rhamnolipid (*rhlA*, *rhlB*, *rhlC*, dan *rhlR*) pada *Pseudomonas aeruginosa* Strain UA”. Penulisan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana sains bidang biologi di Universitas Airlangga. Penulisan dan penulisan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ni'matuzahroh selaku dosen pembimbing I dan sekaligus Dosen Wali yang senantiasa memberikan waktu, saran, doa, dan bimbingannya kepada penulis sampai terselesaikan penulisan skripsi ini.
2. Almando Geraldi, S.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing II serta selaku dosen riset penelitian yang senantiasa membimbing, mengarahkan, memberi saran, dan meluangkan waktunya kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan benar.
3. Dr. Salamun, M. Kes, selaku dosen penguji I yang memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga dapat terselesaikan dengan baik dan benar.
4. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku dosen penguji II yang memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga dapat terselesaikan dengan baik dan benar.
5. Seluruh staf pengajar program studi S1 Departemen Biologi yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis sehingga dapat mendukung dalam penulisan skripsi.
6. Ayah, Ibu, serta keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dukungan finansial dan semangat, serta doa terbaik kepada penulis.
7. Tim Proteomik PUI-PT Pusat Riset Rekayasa Molekul Hayati, Universitas Airlangga, terima kasih atas segala bimbingan dan saran selama proses penelitian.

8. Teman-teman sejawat: Putri, Arghi, Riantiza, Fatima, Nabela, Versa, dan Noviana yang memberikan semangat selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
9. Serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang banyak memberikan saran, bimbingan, dan pengalamannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan khususnya bagi dunia pendidikan, dunia industri dan kesehatan.

Surabaya, 2 Desember 2022

Penulis

Umami Amaliatush Sholichah Putri
Merdekawati

Daftar Isi

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
SURAT PENYATAAN ORISINALITAS.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMAKASIH	ix
Daftar Isi.....	xi
Daftar Gambar	xiv
Daftar Tabel.....	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Manfaat	6
1.5 Asumsi	7
1.6 Hipotesis Penelitian	7
BAB II.....	9
TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Rhamnolipid	9
2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sebagai Penghasil Rhamnolipid	9
2.2.1. Karakteristik umum <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sebagai penghasil rhamnolipid	10
2.3. Sintesis Rekombinan Rhamnolipid	12
2.4 Deteksi Gen dengan Teknik <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	13
2.4.1. Teknik PCR	13

2.4.2. Primer	14
2.5 Sequencing DNA.....	15
2.6 Analisis Hasil Sequencing dengan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).....	17
2.7 NCBI Conserved Domain Search	18
2.8 UniProt.....	18
BAB III.....	20
METODE PENELITIAN.....	20
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	20
3.3 Kerangka Penelitian.....	21
3.4 Prosedur	21
3.4.1. Peremajaan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	21
3.4.2. Pengamatan, karakterisasi koloni, dan pewarnaan Gram.....	21
3.4.3. Isolasi DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.4.4. Mencari urutan gen terkait rhamnolipid di GenBank	23
3.4.5. Mendesain primer	28
3.4.6. Tahap Polymerase Chain Reaction (PCR)	31
3.4.7. Elektroforesis hasil PCR.....	31
3.4.8. Sequencing DNA dengan metode Sanger.....	32
3.4.9. Analisis hasil sequencing DNA	33
3.5. Analisis Data	35
BAB IV	35
HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Konfirmasi Karakteristik Koloni dan Mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA	35
4.2. Isolasi DNA Genom <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	35
4.3. Analisis DNA Genomik <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA.....	38
4.4. Amplifikasi gen <i>rhlA</i> , <i>rhlB</i> , <i>rhlC</i> , dan <i>rhlR</i> dengan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR).....	39
4.5. Analisis Hasil Sequencing Gen-gen Terkait Biosintesis Rhamnolipid <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA.....	43
BAB V.....	53

KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	54
Daftar Pustaka	53
Lampiran	57

Daftar Gambar

No.	Judul Gambar	Halaman
2.1	Langkah-langkah sintesis rhamnolipid	12
3.3	Bagan alur penelitian	21
3.4.1	Halaman muka (beranda) NCBI.	24
3.4.2	Penulisan kata kunci pada fitur pencarian	24
3.4.3	Pemilihan gen <i>rhlA</i> pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	25
3.4.4	Pemilihan gen <i>rhlB</i> pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	25
3.4.5	Pemilihan gen <i>rhlC</i> pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	25
3.4.6	Pemilihan gen <i>rhlR</i> pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	26
3.4.7	Melihat format FASTA dari suatu gen.	26
3.4.8	Format FASTA dari gen <i>rhlA</i> .	27
3.4.9	Langkah awal untuk mendesain primer	28
3.4.10	Pemulaian desain primer gen.	29
3.4.11	Menyalin format FASTA.	29
3.4.12	Parameter primer	30
3.4.13	Menjalankan proses desain primer.	30
4.1	Morfologi makroskopis dan mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA. (A) Penampakan koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA; (B) Hasil pewarnaan Gram <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA.	35
4.2	Elektroforesis hasil isolasi DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA. (A) Marker GeneRuler™ 10kb DNA (Thermo Scientific) dan (B) Hasil isolasi DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA ukuran >10.000bp.	37
4.3	Hasil elektroforesis ampikon gen-gen terkait biosintesis rhamnolipid <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	43
4.4	Jalur sintesis rhamnolipid dan enzim yang berperan di dalamnya.	48

Daftar Tabel

No.	Judul Tabel	Halaman
3.1.	Daftar Template Gen yang digunakan untuk Desain Primer.	27
3.2.	Pengkondisian PCR	31
4.1.	Hasil absorban DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA dengan spektrofotometer μ Drop Plate	38
4.2.	Urutan primer yang digunakan untuk deteksi gen terkait biosintesis rhamnolipid <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA.	40
4.3.	Persen homologi basa nukleotida gen terkait biosintesis rhamnolipid pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain PAO1.	44
4.4.	Persen homologi asam amino yang dikode oleh gen terkait biosintesis rhamnolipid pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain PAO1	45
4.5.	Kelompok enzim dan protein yang dikode oleh gen terkait biosintesis rhamnolipid pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain UA berdasarkan analisis menggunakan website NCBI <i>conserved domain search</i>	49
4.6.	Sisi aktif enzim terkait sintesis rhamnolipid <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50

Daftar Lampiran

No.	Judul Lampiran	Halaman
1.	<i>Alignment</i> BLAST-N gen <i>rhlA</i>	59
2.	<i>Alignment</i> BLAST-P protein hasil <i>rhlA</i>	60
3.	<i>Alignment</i> BLAST-N gen <i>rhlB</i>	60
4.	<i>Alignment</i> BLAST-P protein hasil <i>rhlB</i>	62
5.	<i>Alignment</i> BLAST-N gen <i>rhlC</i>	62
6.	<i>Alignment</i> BLAST-P protein hasil <i>rhlC</i>	63
7.	<i>Alignment</i> BLAST-N gen <i>rhlR</i>	64
8.	<i>Alignment</i> BLAST-P protein hasil <i>rhlR</i>	65
9.	BLAST-N <i>rhlA</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	66
10.	BLAST-N <i>rhlB</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	66
11.	BLAST-N <i>rhlC</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	66
12.	BLAST-N <i>rhlR</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	66
13.	BLAST-P <i>RhlA</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	67
14.	BLAST-P <i>RhlB</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	67
15.	BLAST-P <i>RhlC</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	67
16.	BLAST-P <i>RhlR</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UA	67