

**IDENTIFIKASI SPESIES DAN DETEKSI GEN PENYANDI
 β -GLUKOSIDASE ISOLAT BAKTERI ENDOSIMBION SIPUT
(*Achatina fulica*) DAN KECOA (*Pycnoscelus surinamensis*)**

SKRIPSI



AYU TRI WAHYUNI

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**IDENTIFIKASI SPESIES DAN DETEKSI GEN PENYANDI
 β -GLUKOSIDASE ISOLAT BAKTERI ENDOSIMBION SIPUT
(*Achatina fulica*) DAN KECO A (*Pycnoscelus surinamensis*)**

SKRIPSI



AYU TRI WAHYUNI

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

2022

**IDENTIFIKASI SPESIES DAN DETEKSI GEN PENYANDI
 β -GLUKOSIDASE ISOLAT BAKTERI ENDOSIMBION SIPUT
(*Achatina fulica*) DAN KECOA (*Pycnoscelus surinamensis*)**

SKRIPSI

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

Ayu Tri Wahyuni
NIM 081811433072

Disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes.
NIP. 197410152002122001



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

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Identifikasi Spesies dan Deteksi Gen Penyandi β -Glukosidase
Isolat Bakteri Endosimbion Siput (*Achatina fulica*) dan Kecoa
(*Pycnoscelus surinamensis*)

Penyusun : Ayu Tri Wahyuni

Nomor Induk : 081811433072

Tanggal Ujian : 25 Juli 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes.
NIP. 197410152002122001



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

Mengetahui :

Kepala Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.
NIP. 196602211992032001

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 penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Ayu Tri Wahyuni

NIM : 0818114333072

Program studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

IDENTIFIKASI SPESIES DAN DETEKSI GEN PENYANDI β -GLUKOSIDASE ISOLAT BAKTERI ENDOSIMBION SIPUT (*Achatina fulica*) DAN KECOA (*Pycnoscelus surinamensis*)

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 5 Agustus 2022



Ayu Tri Wahyuni

NIM. 0818114333072

Ayu Tri Wahyuni, 2022. **Identifikasi Spesies dan Deteksi Gen Penyandi β -Glukosidase Isolat Bakteri Endosimbion Siput (*Achatina fulica*) dan Kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*)**. Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes. dan Almando Geraldi, S.Si., Ph.D. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Salah satu mikroorganisme penghasil enzim yang layak dieksplorasi adalah penghasil enzim β -glukosidase yang aplikasinya antara lain untuk pemutusan dan sintesis ikatan glikosidik yang memegang peranan utama dalam banyak jalur biologis penting serta berperan dalam sejumlah aplikasi bioteknologi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining aktivitas enzim β -glukosidase bakteri endosimbion siput (*Achatina fulica*) pada isolat ESD 4 dan kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*) pada isolat EKA 4, EKA 19, serta EKA 20, mengidentifikasi nama jenis spesies bakteri endosimbion, mendeteksi serta menganalisis gen penyandi β -glukosidase. Skrining aktivitas enzim β -glukosidase menggunakan substrat X-glc. Identifikasi spesies bakteri endosimbion dilakukan secara molekuler menggunakan penanda gen 16S rRNA. Kemudian untuk deteksi gen dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik untuk mengamplifikasi gen β -glukosidase yang kemudian hasil sekuensing dianalisis dengan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) menggunakan algoritma BLASTn, tBLASTx serta BLASTx. Dalam penelitian ini bakteri endosimbion kecoa (*P. surinamensis*) berhasil diidentifikasi, isolat EKA 4 sebagai *Bacillus subtilis*, isolat EKA 19 sebagai *B. cereus*, dan isolat EKA 20 sebagai *B. amyloliquefaciens*. Bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim β -glukosidase serta memiliki gen yang mengkode protein Aryl-phospho-beta-D-glucosidase bglH [*B. subtilis*] dan 6-phospho-beta-glucosidase [*B. amyloliquefaciens* group] yang termasuk ke dalam golongan *Glycosyl hydrolases family 1*. Hal ini menunjukkan bahwa enzim *Glycosyl hydrolases family 1* dari bakteri tersebut benar merupakan β -glukosidase.

Kata kunci: Bakteri endosimbion, β -glukosidase, *Bacillus*, *Glycosyl hydrolases family 1*.

Ayu Tri Wahyuni, 2022. **Species Identification and Detection of β -Glucosidase Encoding Genes for Bacterial Endosymbionts of Snails (*Achatina fulica*) and Cockroaches (*Pycnoscelus surinamensis*)**. This bachelor thesis is under guidance of Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes. and Almando Geraldi, S.Si., Ph.D. Biology Department, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

One of the enzyme-producing microorganisms that deserves to be explored is the producer of β -glucosidase enzymes whose applications include breaking and synthesizing glycosidic bonds which play a major role in many important biological pathways and play a role in a number of biotechnological applications. This study aims to screen for β -glucosidase enzyme activity of endosymbiont bacteria of snails (*Achatina fulica*) isolate ESD 4 and cockroaches (*Pycnoscelus surinamensis*) isolate EKA 4, EKA 19, and EKA 20, identify the species names of endosymbiont bacteria, detect and analyze genes encoding β -glucosidase. Screening of β -glucosidase enzyme activity using X-glc substrate. Identification of bacterial endosymbiont species was carried out molecularly using the 16S rRNA gene marker. Then the gene detection was carried out by the Polymerase Chain Reaction (PCR) method using specific primers to amplify the β -glucosidase gene, which was then analyzed using the *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) using the BLASTn, tBLASTx and BLASTx algorithms. In this study, the endosymbiont of the cockroach (*P. surinamensis*) were identified, isolate EKA 4 as *Bacillus subtilis*, isolate EKA 19 as *B. cereus*, and isolate EKA 20 as *B. amyloliquefaciens*. These bacteria are able to produce the β -glucosidase enzymes and revealed to encode proteins Aryl-phospho-beta-D-glucosidase bglH [*B. subtilis*] and 6-phospho-beta-glucosidase [*B. amyloliquefaciens* group] which belong to the *Glycosyl hydrolases family 1*. This indicates that the enzyme *Glycosyl hydrolases family 1* from the two bacterial isolates is indeed a β -glucosidase.

Key words: Bacterial endosymbionts, β -glucosidase, *Bacillus*, *Glycosyl hydrolases family 1*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat-Nya sehingga naskah skripsi dengan judul **“Identifikasi Spesies dan Deteksi Gen Penyandi β -Glukosidase Isolat Bakteri Endosimbion Siput (*Achatina fulica*) dan Kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*)”** ini dapat tersusun dengan baik. Naskah skripsi ini disusun sebagai syarat untuk mendapatkan gelar sarjana sains pada program S-1 Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu, memberi masukan dan arahan, serta memberi dukungan dalam penyusunan naskah skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan naskah skripsi dengan baik dan lancar. Penulis menyadari dalam proses penyusunan naskah skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi memberikan manfaat dalam bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta pembaca pada umumnya.

Surabaya, 3 Juli 2022

Penyusun,

Ayu Tri Wahyuni

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dipanjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat-Nya sehingga naskah skripsi dengan judul **“Identifikasi Spesies dan Deteksi Gen Penyandi β -Glukosidase Isolat Bakteri Endosimbion Siput (*Achatina fulica*) dan Kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*)”** ini dapat tersusun dengan baik. Penulisan dan penyusunan naskah skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes. selaku dosen pembimbing I yang senantiasa memberikan waktu, saran, doa, dan bimbingannya kepada penulis hingga terselesaikannya penyusunan naskah skripsi ini.
2. Bapak Almando Geraldi, S.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing II serta selaku dosen yang mendampingi selama penelitian yang senantiasa membimbing, mengarahkan, memberi saran, dan meluangkan waktunya kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan benar.
3. Ibu Tri Nurhariyati, S.Si, M.Kes. selaku dosen penguji I yang memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penyusunan naskah skripsi dengan baik dan benar.
4. Prof. Dr. Hj. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku dosen penguji II serta Kepada Departemen Biologi yang memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penyusunan naskah skripsi dengan baik dan benar.
5. Ibu Dr. Ni'matuzahroh selaku ketua tim riset endosimbion yang selalu memberikan ilmu dan wawasan baru serta pengalaman yang sangat berharga selama melakukan riset penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu dosen pengajar program S-1 Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis sehingga dapat mendukung penyusunan naskah skripsi ini.

7. Alm. Bapak, Ibu, Adik-adik, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan motivasi, semangat, dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan naskah skripsi dengan baik.
8. Seluruh teman-teman tim riset endosimbion yang berada di bawah bimbingan Ibu Dr. Ni'matuzahroh yang saling membantu dan memberikan semangat selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
9. Teman terdekat penyusun terkhusus Inesti Lailatul Qodriyah, anggota KPMb, serta teman lainnya yang juga sedang menjalani masa tugas akhir namun selalu saling mendukung dan memberikan motivasi sehingga dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan baik.
10. Serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan saran, masukan, dan bimbingan.

Surabaya, 3 Juli 2022

Penyusun

Ayu Tri Wahyuni

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Asumsi Penelitian	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.5.1 Manfaat aplikatif	6
1.5.2 Manfaat ilmiah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Bakteri Endosimbion	7
2.2 Potensi Bakteri Endosimbion Hewan Dekomposer Sebagai Penghasil Enzim Hidrolitik	8
2.3 Enzim β -glukosidase	10
2.3.1 Deteksi gen penyandi β -glukosidase	12
2.3.1.1 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	12
2.3.1.2 Sekuensing DNA	16

2.3.1.3 Analisis sekuen	17
2.4 Identifikasi Bakteri Menggunakan Penanda Molekuler Gen 16S rRNA .	17
2.4.1 Tinjauan umum tentang 16S rRNA	18
2.4.2 Metode identifikasi spesies dengan gen 16S rRNA	20
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.1.1 Tempat penelitian	23
3.1.2 Waktu penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.2.1 Alat penelitian	23
3.2.2 Bahan penelitian	24
3.3 Cara Kerja	25
3.3.1 Persiapan isolat bakteri	25
3.3.2 Screening aktivitas β -glukosidase	26
3.3.3 Karakterisasi makroskopis koloni	27
3.3.4 Karakterisasi mikroskopis koloni dengan pewarnaan Gram	26
3.3.5 Isolasi DNA	27
3.3.6 Penentuan kemurnian dan konsentrasi DNA	29
3.3.7 PCR DNA genom untuk amplifikasi gen 16S rRNA	30
3.3.8 Pembuatan primer untuk amplifikasi gen penyandi β -glukosidase	33
3.3.9 Amplifikasi gen penyandi enzim β -glukosidase	34
3.3.10 Purifikasi produk PCR	34
3.3.11 Elektroforesis gen penyandi enzim β -glukosidase	35
3.3.12 Analisis hasil sekuensing DNA	36
3.4 Rancangan Penelitian	37
3.5 Analisis Data Penelitian	38
3.6 Kerangka Penelitian	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.1.1 <i>Screening</i> aktivitas β -glukosidase	41
4.1.2 Karakterisasi makroskopis dan mikroskopis bakteri endosimbion	42

4.1.3 Pengukuran konsentrasi dan kemurnian isolasi DNA genom	44
4.1.4 Identifikasi isolat bakteri endosimbion hewan dekomposer secara molekuler	45
4.1.5 <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> - nucleotide bakteri endosimbion hewan dekomposer	46
4.1.6 Hasil analisis amplifikasi gen penyandi β -glukosidase bakteri endosimbion	47
4.1.7 Analisis hasil sekuensing gen penyandi β -glukosidase	48
4.2 Pembahasan	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2. 1	Siklus PCR.....	15
Gambar 2. 2	Metode elektroforesis.....	17
Gambar 2. 3	Gen 16S rRNA.....	19
Gambar 3. 1	Kerangka penelitian.....	39
Gambar 4. 1	Visualisasi produk PCR gen 16S rRNA.....	45
Gambar 4. 2	Visualisasi produk PCR gen penyandi β -Glukosidase.....	47

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
Tabel 4. 1	Hasil <i>screening</i> aktivitas β -glukosidase	41
Tabel 4. 2	Hasil karakterisasi makroskopis	41
Tabel 4. 3	Hasil karakterisasi mikroskopis	43
Tabel 4. 4	Pengukuran konsentrasi dan kemurnian isolasi DNA genom	44
Tabel 4. 5	Hasil identifikasi BLASTn bakteri endosimbion	46
Tabel 4. 6	Template desain primer PCR gen penyandi β -glukosidase	47
Tabel 4. 7	Hasil analisis TBLASTX gen penyandi β -glukosidase	48
Tabel 4. 8	Hasil analisis BLASTX gen penyandi β -glukosidase	48
Tabel 4. 9	Analisis sisi aktif enzim β -glukosidase menggunakan PROSITE	49

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran
1.	Konsensus isolat EKA 19 untuk analisis identifikasi spesies
2.	Konsensus isolat EKA 20 untuk analisis identifikasi spesies
3.	Hasil BLASTn isolat EKA 19
4.	Hasil BLASTn isolat EKA 20
5.	Template sekuens untuk merancang primer amplifikasi isolat EKA 4
6.	Template sekuens untuk merancang primer amplifikasi isolat EKA 19
7.	Template sekuens untuk merancang primer amplifikasi isolat EKA 20
8.	Konsensus untuk analisis deteksi gen penyandi β -glukosidase isolat EKA 4
9.	Konsensus untuk analisis deteksi gen penyandi β -glukosidase isolat EKA 20
10.	Hasil analisis TBLASTX isolat EKA 4
11.	Hasil analisis BLASTX isolat EKA 4
12.	Hasil analisis TBLASTX isolat EKA 20
13.	Hasil analisis BLASTX isolat EKA 20
14.	Urutan asam amino protein yang dikode isolat EKA 4
15.	Urutan asam amino protein yang dikode isolat EKA 20
16.	Hasil analisis PROSITE isolat EKA 4
17.	Hasil analisis PROSITE isolat EKA 20
18.	Hasil analisis UniProt isolat EKA 4