

Nadiyah Al Batati. 2020. Identifikasi Gen *cry* dan Karakteristik Genetik Isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 Entomopatogen dari Taman Nasional Baluran.

Tesis dibawah bimbingan: Dr. Ni'matuzahroh dan Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Bakteri entomopatogen merupakan salah satu cara yang mampu digunakan untuk pengendalian serangga pembawa vektor, salah satunya adalah untuk pengendalian nyamuk *Aedes aegypti*, pembawa vektor virus *dengue*. Pengendalian vektor virus *dengue* secara biologis dapat dilakukan dengan memanfaatkan organisme hidup, salah satunya adalah dengan menggunakan mikroorganisme kelompok bakteri *Bacillus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nama jenis isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 entomopatogen dari Taman Nasional Baluran, mendeteksi keberadaan gen penyandi toksin *cry*, serta mengetahui mekanisme entomopatogen yang dilakukan oleh isolat bakteri tersebut. DNA genom *Bacillus* sp. BK 7.2 dapat diketahui dengan cara mengisolasi DNA melalui elektroforesis. Selanjutnya, gen 16S rRNA di amplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Setelah itu, urutan nukleotida yang dihasilkan dianalisis kekerabatannya dengan program Mega 7. Deteksi gen penyandi toksin *cry* dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer *cry* IV. Analisis tingkat homologi gen *cry* dilakukan dengan menggunakan program analisis genetik BLAST. Mekanisme entomopatogen dari isolat ini dapat diketahui dengan melakukan pengujian aktivitas biosurfaktan dan kitinase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 memiliki kesamaan sebesar 100% dengan *Bacillus subtilis* subs. Inaquosorum strain BGSC 3A28. Hasil analisis deteksi gen *cry* menunjukkan tingkat homologi sebesar 3,02% dengan gen *cry* IV. Aktivitas biosurfaktan menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada uji hemolisis, terjadinya pemisahan antara substrat solar pada uji *oil spreading*, terbentuknya emulsi pada uji emulsifikasi, serta penurunan nilai tegangan permukaan sebesar 22,3 dyne/cm. Sedangkan uji kitinase menunjukkan hasil negatif dikarenakan tidak terlihat zona bening di sekitar koloni. Dari hasil penelitian dapat diketahui nama isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 setelah dianalisis gen 16S rRNA dengan analisis BLAST memiliki kedekatan sebesar 100% dengan spesies *Bacillus subtilis* subs. inaquosorum strain BGSC 3A28. Dan setelah dilakukan deteksi gen penyandi toksin *Cry* dengan metode PCR, menunjukkan hasil negatif, atau gen *cry* tidak terdeteksi. Mekanisme entomopatogen yang dikembangkan oleh bakteri ini yakni melalui produksi biosurfaktan yang di uji aktivitasnya dengan uji hemolitik, uji *oil spreading*, pengukuran indeks emulsifikasi, dan pengukuran tegangan permukaan.

Kata kunci: Bakteri entomopatogen, gen *cry*, *Bacillus subtilis* subsp. inaquosorum, biosurfaktan, biolarvasida.

Nadiyah Al Batati. 2020. *Cry* Gene Identification and Genetic Characteristics of Entomopathogenic *Bacillus sp.* BK 7.2 from Baluran National Park.

This thesis was under the supervision of Dr. Ni'matuzahroh and Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes., Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

Entomopathogenic bacteria is one way that can be used for vector carrier insect control, one of them is for controlling *Aedes aegypti*, dengue virus vector carrier. The virus vector can be controlled biologically by involving living organisms, one of which is by using a microorganism group of *Bacillus*. This study aims to determine the type of entomopathogenic *Bacillus sp.* BK 7.2 isolate from Baluran National Park, to detect the presence of toxic *Cry* coding genes, as well as to know the entomopathogenic mechanisms carried out by these bacterial isolates. *Bacillus sp.* BK 7.2 DNA genome was determined by isolating DNA through electrophoresis. Furthermore, the 16S rRNA gene was amplified by the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. After that, the sequence of nucleotides produced was analyzed with the Mega 7 program to understand its kinship. Detection of toxic *cry* genes was performed by the PCR method using *cry* IV primers. Homology level analysis of *cry* genes was performed using the BLAST genetic analysis program. The entomopathogenic mechanism of the bacterial isolate was determined by testing biosurfactant and chitinase activities. The results showed that *Bacillus sp.* BK 7.2 isolate has a 100% similarity with *Bacillus subtilis* subs. inaquosorum BGSC 3A28. The detection of the *cry* gene showed a 3,02% homolog level with the *cry* IV gene. Biosurfactant activity test showed positive results marked by the formation of a clear zone in the hemolysis test, the separation of the diesel substrate in the oil spreading test, the formation of an emulsion in the emulsification test, and a 22.3 dyne/cm decrease of the surface tension. However, the chitinase test showed negative results because there was no clear zone around the colony. From this study can be known the name of *Bacillus sp.* BK 7.2 isolate after analyzed the 16S rRNA gene using BLAST analysis and resulting 100% similarity with *Bacillus subtilis* subs. inaquosorum BGSC 3A28. And after detecting the toxic *Cry* coding genes using PCR method, showed negative result, or *cry* gene was undetected. The entomopathogenic mechanism that developed by this bacteria was through producing biosurfactant which its activity was tested using haemolytic assay, oil spreading assay, emulsification index measurement, and surface tension measurement.

Keywords: Entomopathogen, *cry* gene, *Bacillus subtilis* subsp. inaquosorum, biosurfactant, biolarvacide