



## **SEMINAR NASIONAL BIOKIMIA 2014**

Auditorium Utama Harun Nasution, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

22 Mei 2014

# **PROSIDING**

*“Peningkatan Kapasitas Keilmuan dan Penelitian Bidang Biokimia dan Bioteknologi Menuju Kemandirian Bangsa”*

Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta  
Jl. Ir. H. Juanda No. 95 Ciputat 15412 Telp/Fax: +62217493315

# PROSIDING

## SEMINAR NASIONAL BIOKIMIA 2014 UIN SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA

“Peningkatan Kapasitas Keilmuan dan Penelitian Bidang Biokimia dan  
Bioteknologi Menuju Kemandirian Bangsa”

Kamis, 22 Mei 2014

Auditorium Utama Harun Nasution  
Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Penyelenggara :

**HIMPUNAN MAHASISWA KIMIA  
PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA**



## **PROSIDING**

**SEMINAR NASIONAL BIOKIMIA 2014  
UIN SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA**

### **Tema :**

**“Peningkatan Kapasitas Keilmuan dan Penelitian Bidang Biokimia dan Bioteknologi Menuju Kemandirian Bangsa”**

### **Penyunting/ Mitra Bestari :**

Prof. Dr. Usman Sumo F. Tambunan (Universitas Indonesia)

Prof. Dr. Sumi Hudiono PWS (Universitas Indonesia)

Prof. Dr. Maria Bintang (Institut Pertanian Bogor)

Dr. Santi Nurbaiti (Institut Teknologi Bandung)

Dr. Anna P. Roswiem, MS (Institut Pertanian Bogor)

Dr. Irawan Sugoro (PATIR BATAN)

Sandra Hermanto, M.Si (UIN Syarif Hidayatullah Jakarta)

diterbitkan di Jakarta

Tanggal 15 Oktober 2014

### **Penerbit :**

**PROGRAM STUDI KIMIA**

**Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah**

**Jl. Ir. H. Juanda No. 95 Ciputat Jakarta, 15412**

**[www.uinjkt.ac.id](http://www.uinjkt.ac.id)**

## DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar .....	iii
Sambutan Ketua Pelaksana .....	iv
Sambutan Sekjen IKAHIMKI .....	vi
Sambutan Rektor UIN Syarif Hidayatullah Jakarta .....	vii
<b>Keynote Speaker</b>	
<i>Prof. Dr. H. Akhmaloka</i> .....	xi
<b>Plenary Lecturer</b>	
BIOKIMIA DAN KEDOKTERAN .....	Xii
<i>Prof. Dr. dr. M.K. Tadjudin, Sp,And</i>	
BIOKIMIA DAN TEKNOLOGI FARMASI: DESAIN OBAT DAN VAKSIN DENGAN PENDEKATAN BIOMEDIS MOLEKULAR .....	Xiii
<i>Prof. Dr. Usman Sumo F. Tambunan</i>	
PENGEMBANGAN RISET PIGMEN FOTOSINTESIS: STUDI KASUS DI MA CHUNG RESEARCH CENTER FOR PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS .....	xvii
<i>Tatas H. P. Brotosudarmo, Ph.D</i>	
<b>Peserta Pemakalah (Oral &amp; Poster)</b>	
INTERNAL PRIMER DESIGN FOR DIVERSITY STUDY OF THERMOSTABLE LIPASE GENE FRAGMENT FROM ENVIRONMENTAL SAMPLE .....	1-5
<i>Nurhasanah, Santi Nurbaiti, Fida Madayanti, Akhmaloka</i>	
EKSTRAK DAUN SAMBILOTO ( <i>Andrographis paniculata</i> ) MEMPERBAIKI KERUSAKAN SEL BETA PANGKREAS MELALUI PENURUNAN GLUKOSA DARAH, LIPID PEROKSIDASI (MDA), DAN KERUSAKAN SEL ( <i>8-Hidroksi-2- Dioksiguanosin</i> ) PADA TIKUS WISTAR HIPERGLIKEMIA .....	6-22
<i>Sri Wahjuni</i>	
KARAKTERISASI ENZIM B-GALAKTOSEDASE DARI <i>Lactobacillus Sp</i> UNTUK MENGHIDROLISA LAKTOSA SUSU UHT BAGI PENDERITA LAKTOSA INTOLERAN	23-32
<i>Abdul Choliq</i>	
STUDI PRODUKSI MINYAK KELAPA MURNI ( <i>Virgin Coconut Oil</i> ) DENGAN CARA FERMENTASI MENGGUNAKAN <i>Aspergillus Oryzae</i> .....	33-46
<i>Sadiyah Djajasoepena, Safri Ishmayana, Yati B.Yuliati, Syifa Fauzia</i>	
PENENTUAN KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM (KHM) ANTIBIOTIKA SEFTAZIDIM, SEFALEKSIN, AMPISILIN, STREPTOMISIN, SIPROFLOKSASIN, TETRASIKLIN, DAN GENTAMISIN TERHADAP <i>Yersinia Enterocolitica</i> HASIL ISOLASI DARI SUSU SAPI YANG TERINFEKSI MASTITIS .....	47-51

## INTERNAL PRIMER DESIGN FOR DIVERSITY STUDY OF THERMOSTABLE LIPASE GENE FRAGMENT FROM ENVIRONMENTAL SAMPLE

Nurhasanah<sup>1,2</sup>, Santi Nurbaiti<sup>1</sup>, Fida Madayanti<sup>1</sup>, Akhmaloka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biochemistry Research Group, FMIPA, ITB, Jalan Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia

<sup>2</sup>Department Chemistry, FMIPA, Lampung University, Indonesia

Corresponding author : loka@chem.itb.ac.id

### ABSTRACT

Lipase is a hydrolytic enzyme that has an important role in the biotechnology industries. This is due to its ability to catalyze multiple organic reactions such as hydrolysis, esterification, interesterification, transesterification and synthesis reactions. Research for inventing novel lipase with unique properties *i.e.* thermostable lipase is still being carried out by using several approaches. One of the method is by metagenomic approach which indirectly amplifying lipase gene from natural resources. Hence the aim of this research is to design a primers to amplify lipase gene fragments from environmental samples. The study was conducted through bioinformatics analysis of lipase database from *GeneBank*, selection of conserved region of the whole lipase genes, primers and in silico analysis by using ClustalX, Gendoc, Primer Detective and GenMonsoftwares. 68 amino acid sequences from 68 bacteria genus were used to obtain the conserved region of lipase gene. The results showed that there are 4 conserved regions, namely one, second, third and fourth region. The best primer pair was obtained from second and fourth regions, and resulted lipase gene fragments for approximately 570 bp. Based on insilico study indicated that the primers amplify some group of bacteria. Therefore, we conclude the primer can be used to amplify lipase gene fragments from environmental sample in the form of a mixture of lipase gene fragments from various bacteria. Several lipase fragments were detected on polyacrylamide gel after separation of PCR mixtures by using DGGE apparatus.

**Key words** : primer design, lipase, metagenome, diversity

### PENDAHULUAN

Lipase adalah salah satu enzim hidrolitik yang berfungsi menghidrolisis trigliserida menghasilkan asam lemak dan gliserol. Enzim ini banyak digunakan dalam berbagai bidang industri baik pangan, non pangan maupun bidang bioteknologi. Hal ini disebabkan sifat biokatalisis dari lipase yang sangat luas seperti kemampuannya dalam reaksi esterifikasi, interesterifikasi, transesterifikasi serta pemisahan campuran rasemat (Houde *et al.*, 2004). Sampai saat ini, pencarian lipase termostabil masih terus dilakukan, baik melalui isolasi langsung dari kultur maupun melalui teknik DNA rekombinan. Salah satu pendekatan yang dilakukan untuk mengeksplorasi lipase baru adalah melalui pendekatan metagenom sebagai metode alternatif untuk mendapatkan genom dari sampel mikroba yang diperoleh dari alam atau lingkungan alamiah tanpa harus mengkulturkannya. Melalui pendekatan ini telah banyak didapatkan jenis lipase yang relative baru dengan sifat-sifat yang khas.

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati cukup tinggi. Adanya wilayah geothermal baik secara alami maupun buatan yang tersebar luas memungkinkan untuk diperolehnya mikroba termofilik dengan diversitas yang tinggi, sehingga usaha untuk mendapatkan enzim termostabil yang bervariasi juga sangat tinggi. Sampai saat ini telah banyak dilakukan penelitian dalam upaya mencari enzim termostabil diantaranya melalui teknik kultivasi, namun melalui teknik ini, kurang dari 1% mikroba yang telah berhasil dikulturkan. Hal ini disebabkan keterbatasan dan sulitnya menemukan media yang selektif untuk pertumbuhan mikroba tersebut. Pendekatan yang relative baru dilakukan adalah dengan cara mendapatkan genom dari sampel mikroba langsung dari alam atau lingkungan tanpa harus mengkulturkannya, biasa dikenal dengan metagenom. Pendekatan metagenom ini dilakukan dengan cara mengekstraksi genom DNA keseluruhan dari total mikroorganisme dari suatu lingkungan dilanjutkan dengan kloning DNA dari sampel lingkungan ke dalam vektor untuk menkonstruksi pustaka genom (pustaka metagenom) serta mengespresikan gen-gen tersebut dalam sel inang (Lorenz dan Schleper, 2002).

Untuk mendapatkan varian lipase termostabil yang diperoleh langsung dari alam, diperlukan pasangan primer yang dapat mengamplifikasi fragmen gen lipase dari berbagai jenis mikroba. Oleh karena itu, pada tahap ini, telah dirancang sepasang primer yang diharapkan dapat mengamplifikasi fragmen gen lipase tersebut.

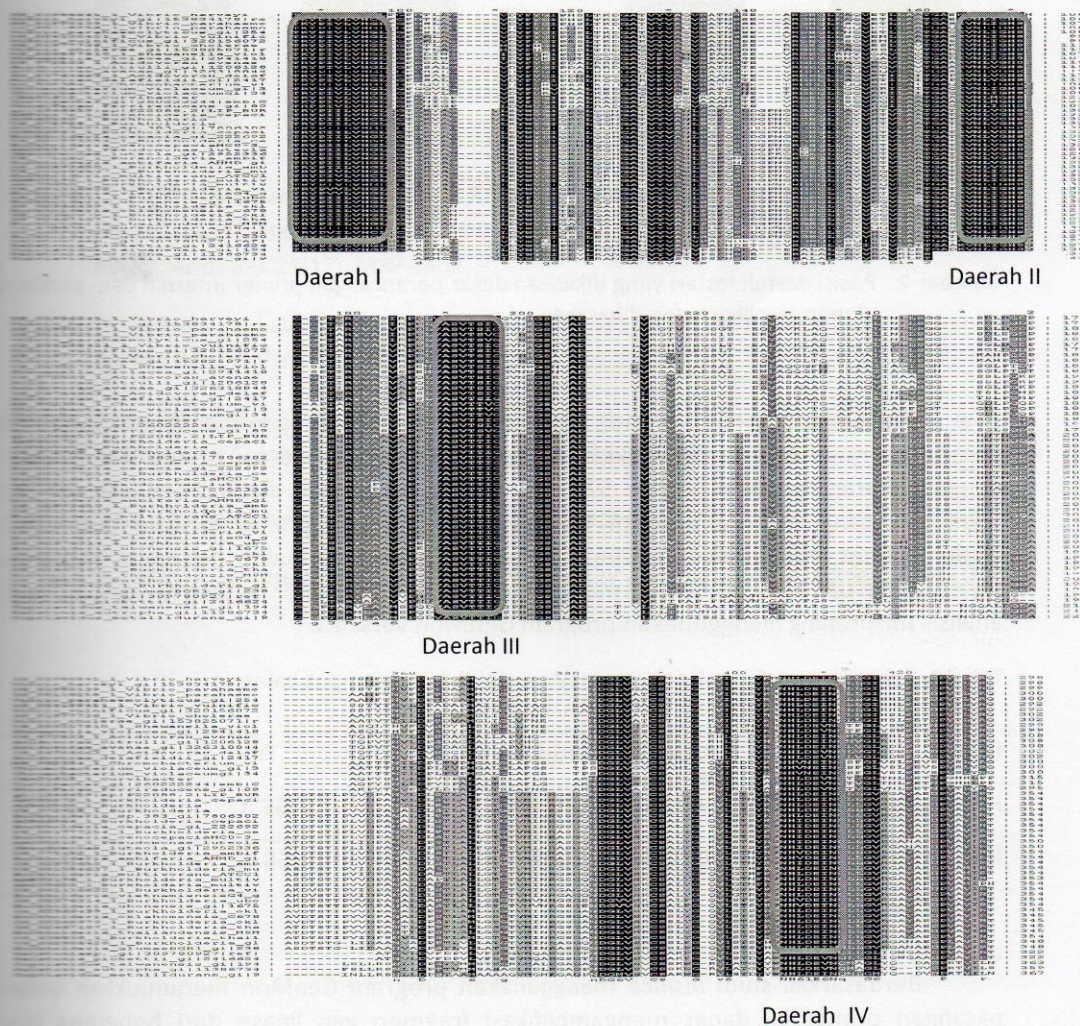
## METODE PENELITIAN

Desain primer dilakukan melalui pendekatan bioinformatik. Primer yang dirancang merupakan primer internal dan digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen lipase di dalam daerah penyandi berdasarkan urutan asam amino yang lestari. Pengumpulan data urutan asam amino lipase dari berbagai mikroorganisme dari kelompok bakteri diperoleh dari database *GenBank* pada situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> dengan bantuan program online BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Keseluruhan urutan asam amino lipase yang diperoleh dalam format fasta disejajarkan dengan menggunakan program Clustal X untuk mendapatkan daerah lestari lipase. Berdasarkan hasil penjajaran, dipilih beberapa mikroorganisme yang sesuai yang akan dijadikan target. Urutan asam amino yang dimiliki mikroorganisme target disejajarkan kembali dengan program GenDoc untuk mendapatkan daerah lestari yang dapat digunakan sebagai target tempat penempelan primer dengan tingkat kesamaan mencapai 80-100%. Tahap selanjutnya adalah penentuan urutan nukleotida pada daerah lestari yang didapatkan dari data urutan nukleotida gen lipase kelompok bakteri dari *GenBank*. Urutan nukleotida daerah lestari ini kemudian disejajarkan dengan menggunakan program Clustal X, untuk mengetahui urutan nukleotida yang dominan dari beberapa urutan yang ada untuk dapat diseleksi. Hasil seleksi urutan nukleotida diuji dengan beberapa parameter primer seperti intra- dan inter-homologi serta kandungan GC primer dianalisis menggunakan program *Primer Detective* versi 1.0 (Lowe, 1990), kesalahan penempelan primer dan studi *insilico* pasangan primer terhadap beberapa kelompok bakteri dianalisis menggunakan program GenMon versi 4.1 (GBF, Braunschweig, Germany).

## HASIL DAN PEMBAHASAN



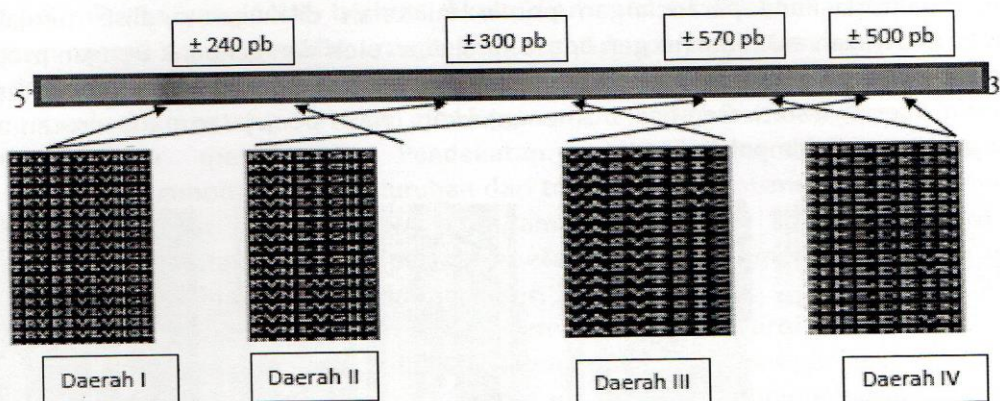
Proses perancangan primer merupakan tahapan penting bagi keberhasilan proses amplifikasi. Dalam proses ini terdiri dari dua bagian utama yaitu penentuan daerah lestari gen lipase dan penentuan urutan primer yang akan digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen lipase. Perancangan primer dilakukan untuk mendapatkan sepasang primer yang digunakan untuk mengamplifikasi fragmen-fragmen gen lipase termotabil dari kelompok bakteri. Pada perancangan primer ini telah dilakukan analisis penjajaran terhadap 68 urutan asam amino gen lipase yang diperoleh dari genbank dengan program Clustal X. Berdasarkan hasil penjajaran tersebut terdapat urutan asam amino pada beberapa daerah lestari. Gambar 1 menunjukkan hasil penjajaran pada urutan asam amino gen lipase kelompok bakteri.



**Gambar 1.** Hasil penjajaran urutan asam amino gen lipase kelompok bakteri menggunakan program ClustalX. Daerah yang ditandai dengan blok berwarna hijau menunjukkan daerah lestari pada gen lipase yang dijadikan target perancangan primer.



Dari hasil peninjauan tersebut diambil empat daerah dari 68 asam amino gen lipase yang dijadikan target perancangan primer. Perancangan primer internal dirancang berdasarkan kesamaan urutan nukleotida yang telah diinjarkan dari keempat daerah lestari. Gambar 2. menunjukkan posisi keempat daerah lestari yang dijadikan target pada penentuan urutan primer internal dan perkiraan ukuran ampikon yang diperoleh.



Gambar 2. Posisi daerah lestari yang dijadikan dasar perancangan primer internal dan perkiraan ukuran ampikon yang dihasilkan

Berdasarkan analisis primer terhadap pasangan dari keempat daerah lestari ini, pasangan primer terbaik ditunjukkan dari pemilihan daerah lestari kedua dan keempat dengan ukuran ampikon sekitar 570 pb. Urutan nukleotida dari primer internal yang telah dirancang tercantum dalam Tabel 1, Flip-1a adalah primer forward dan Rlip-1a adalah primer reverse. Kedua primer ini telah dianalisis terhadap beberapa parameter seperti intra dan inter homologi, menggunakan program Primer Detective versi 1.0 serta analisis mispriming menggunakan program GenMon versi 4.1.

Tabel 1. Primer internal untuk gen lipase termotabil dari kelompok bakteri

Primer	Urutan nukleotida	T <sub>m</sub>	% GC
Flip-1a	5'TGA TCG GCC ACA GTC AGG G 3'	55°C	63
Rlip-1a	5'GTT GAT CTC GTC GAT ATG GTT 3'	50°C	43

Berdasarkan studi *insilico* menggunakan program GenMon menunjukkan bahwa pasangan primer ini dapat mengamplifikasi fragmen gen lipase dari beberapa jenis kelompok bakteri dengan ukuran sekitar 570 pasang basa. Jika sampel yang akan diamplifikasi diambil langsung dari alam, akan dihasilkan ampikon berupa campuran fragmen gen lipase bakteri. Untuk memisahkan campuran fragmen gen lipase tersebut diperlukan analisis lebih lanjut menggunakan teknik DGGE.

## SIMPULAN

1. Pasangan primer internal yang telah berhasil dirancang dapat mengamplifikasi fragmen gen lipase dari beberapa jenis bakteri dengan ukuran sekitar 570 pb.
2. Pasangan primer ini dapat juga digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen lipase yang didapatkan secara langsung dari alam.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Disertasi Doktor atas nama Nurhasanah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic Acids Res.* **25**(17). 3389-3402.
- Houde, A., Kademi, A., Leblanc, D. 2004. Lipases and Their Industrial Applications: An Overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology.* **118**. 155-170.
- Lorenz, P and Schleper, C. 2002. Metagenome-a Challenging Source of Enzyme Discovery. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic.* 19-20. 13-19.
- Lowe, T. M. J. 1990. Primer Detective version 1.0, Clontech Labs. Inc. USA
- Pace, N.R.1997. A Molecular View of Microbial Diversity and the Biosphere.*Science.***276**. 734 – 740.

