

## I. Identitas Calon Promotor

Nama Lengkap : Dr. Rukman Hertadi  
Fakultas/Sekolah : FMIPA  
Kelompok Keahlian : Biokimia  
Telp/Fax/E-mail :

## II. Deskripsi Program

Road Map Penelitian yang diusulkan

**Judul I : Pengolahan limbah B3 hasil produksi biodiesel menjadi biosurfaktan oleh bakteri halofilik untuk enhanced oil recovery (EOR)**

Biosurfaktan merupakan zat aktif permukaan yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada kondisi nutrisi yang terbatas. Biosurfaktan adalah senyawa amfifilik yang memiliki gugus hidrofil dan lipofil yang memungkinkan biosurfaktan untuk memisahkan antarmuka air dengan udara, minyak dengan udara, atau minyak dengan air di mana tegangan permukaan dan/atau tegangan antar muka akan lebih rendah sehingga dapat dimanfaatkan untuk proses *Enhanced Oil Recovery* (EOR). Penelitian yang diajukan ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah biodiesel menjadi biosurfaktan rhamnolipid dengan menggunakan bakteri halofil isolat lokal koleksi Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung. Sasaran dalam penelitian ini adalah memperoleh biosurfaktan yang terkarakterisasi dari limbah biodiesel untuk dimanfaatkan kembali dalam proses EOR. Penelitian ini dibagi kedalam tiga tahap. Tahap pertama meliputi produksi dan pemanenan biomassa bakteri halofil, produksi biosurfaktan dalam media optimasi yang mengandung limbah biodiesel, *screening*, dan karakterisasi biosurfaktan yang dihasilkan, serta uji potensi pada proses EOR. Bakteri yang diketahui berpotensi untuk menghasilkan rhamnolipid yang sesuai untuk EOR akan digunakan sebagai objek penelitian pada tahap kedua, yaitu kloning gen operon *rhIA* dan *rhIB* yang mengkode enzim Rhamnosyltransferase-1 dan gen *FPS1* yang mengkode protein transporter gliserol. Enzim rhamnosyltransferase-1 merupakan enzim kunci dalam produksi rhamnolipid, sedangkan transporter gliserol diperlukan untuk meningkatkan kemampuan sel inang untuk menyerap gliserol. Gen operon *rhIA* dan *rhIB*, dan gen transporter gliserol yang telah berhasil dikloning pada tahap ini, kemudian akan diekspresikan pada tahap ketiga. Di tahap ketiga ini, akan didisain vektor untuk mengekspresikan gen operon *rhIA* dan *rhIB*, dan gen *FPS1*, kemudian dilanjutkan dengan optimasi ekspresi dan produksi rhamnolipid menggunakan *Eschericia coli* sebagai sel inang agar proses produksi rhamnolipid dapat berlangsung lebih cepat dan melimpah. Hasil penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan biosurfaktan yang melimpah dengan rentang waktu yang cepat serta biaya seminimal mungkin dan dapat dijadikan sebagai solusi limbah biodiesel.

	Tahap pertama (2015)	Tahap kedua (2016)	Tahap ketiga (2017)
Tahap hilir/ Tahap lanjut			
Tahap pegembangan			

Tahap inisiasi			
----------------	--	--	--

**Keterangan:**

- Kegiatan 1.** Seleksi bakteri halofilik potensial penghasil rhamnolipid dengan menggunakan gliserol sebagai satu-satunya sumber karbon utama.
- Kegiatan 2.** Optimasi media produksi rhamnolipid dengan memvariasikan sumber nitrogen dan mikronutrien lainnya.
- Kegiatan 3.** Pembuatan kurva pertumbuhan dan kurva produksi rhamnolipid dengan media produksi terbaik.
- Kegiatan 4.** Produksi, pemurnian dan karakterisasi fisikokimia rhamnolipid.
- Kegiatan 5.** Uji potensi rhamnolipid pada proses *enhanced oil recovery* (EOR).
- Kegiatan 6.** Kloning gen operon *rhIA* dan *rhIB*, dan gen *FSI*.
- Kegiatan 7.** Ekspresi gen operon *rhIA* dan *rhIB*, dan gen *FSI* dengan sel inang *E. coli*.
- Kegiatan 8.** Produksi rhamnolipid skala lab dan karakterisasinya.
- Kegiatan 9.** Penentuan struktur rhamnolipid.
- Kegiatan 10.** Produksi skala menengah dan aplikasi rhamnolipid pada proses EOR.

## 2 DESKRIPSI RISET-2:

### **Kloning dan Ekspresi Operon Poli-3-hidroksibutirat (PHB) *Halomonas elongata* ke dalam *Eschericia coli***

Sebagian besar plastik diproduksi secara sintetik menyebabkan masalah lingkungan karena tidak mudah terdegradasi secara alamiah. Bioplastik yang merupakan poliester yang disintesis oleh bakteri dapat menjadi solusi alternatif untuk mengatasi dampak negatif plastik terhadap lingkungan. Bioplastik yang populer saat ini adalah polihidroksi alkanoat (PHA) karena memiliki sifat fisikokimia yang mirip dengan plastik sintetik selain dari sifatnya yang dapat terdegradasi di alam. PHA umumnya memiliki bentuk (R)- $\beta$ -hidroksi asam lemak, dimana poli 3-hidroksibutirat (PHB) adalah bentuk umum dari PHA. *Halomonas elongata* telah berhasil diidentifikasi sebelumnya merupakan salah satu produsen PHB. Kendala utama penggunaan bakteri produsen PHB alamiah adalah terbatasnya produksi PHB karena adanya enzim pendegradasi PHB yang juga dihasilkan bakteri tersebut. Hal ini menyebabkan biaya produksi PHB menggunakan bakteri produsen alamiah menjadi tidak ekonomis. Salah satu upaya untuk menekan biaya produksi adalah dengan mengklon gen pengkode enzim yang hanya terlibat dalam produksi PHB ke dalam bakteri yang tumbuh dengan cepat, yaitu *Eschericia coli*. Biosintesis PHB melibatkan tiga tahap reaksi yang dikatalisis oleh tiga enzim berbeda. Reaksi pertama dikatalisis oleh  $\beta$ -ketoasil CoA tiolase (dikode oleh gen *phbA*) yang berperan mengkondensasi dua molekul asetil-CoA menjadi asetoasetil-CoA. Reaksi kedua adalah reduksi asetoasetil-CoA menjadi (R)-3-hidroksibutiril-CoA oleh asetoasetil-CoA dehidrogenase (dikode oleh gen *phbB*). Reaksi terakhir adalah polimerisasi monomer (R)-3-hidroksibutiril-CoA menjadi PHB yang dikatalisis oleh P(3HB) polimerase (dikode oleh gen *phbC*). Ketiga gen ini berada dalam satu klaster gen yang disebut sebagai operon yang akan dikloning dari *Halomonas elongata*. Operon yang telah berhasil dikloning kemudian disisipkan ke dalam vektor ekspresi dan ditransfer ke *E. coli*. Selanjutnya PHB akan diproduksi dan dikarakterisasi secara spektroskopi untuk menentukan struktur PHB yang dihasilkan.

### 3 DESKRIPSI RISET-3:

#### **Kloning dan ekspresi gen pengode levan sukrase dari bakteri halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB 18**

Fruktooligosakarida merupakan salah satu jenis karbohidrat yang bersifat prebiotik. Hal tersebut dikarenakan fruktooligosakarida tidak terdekomposisi oleh enzim-enzim pencernaan sehingga dapat dimanfaatkan sebagai makanan oleh bakteri-bakteri baik yang terdapat dalam usus besar. Peningkatan pertumbuhan bakteri baik dalam usus besar akan menciptakan suasana asam di dalam saluran pencernaan sehingga akhirnya akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab penyakit. Selain sebagai prebiotik, fruktooligosakarida merupakan bahan pemanis rendah kalori dengan tingkat kemanisan setara sukrosa. Dari penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa bakteri halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB 18 merupakan salah satu bakteri penghasil fruktooligosakarida dengan jenis levan, yaitu rantai lurus pendek  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)-D-fruktofuranosil dengan variasi adanya cabang melalui ikatan  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1) glikosidik. Levan yang dihasilkan bakteri ini merupakan hasil dari produk katalitik levansukrase yang disekresikan secara ekstrasel oleh *C. japonicus* BK-AB 18. Untuk meningkatkan produksi levan, pada penelitian ini gen yang mengkode enzim tersebut akan dikloning dari kromosom *C. japonicus* BK-AB 18 dan diekspresikan di *E. coli*. Beberapa bakteri memiliki lebih dari satu gen pengkode levan sucrase, seperti pada *Pseudomonas syringae* yang memiliki tiga alel gen *lscA*, *lscB*, dan *lscC*. Oleh karena itu, pada tahap awal akan dilakukan identifikasi gen pengkode levansukrase. Setelah itu akan dilakukan kloning dengan metode PCR, transfer ke vektor ekspresi, dan ekspresi di *E. coli*. Levan yang dihasilkan akan dikarakterisasi strukturnya secara spektroskopi.