

PRODUKSI POLIHIDROKSIALKANOAT DAN DETEKSI GEN *phaC* PADA *Bacillus cereus* DITUMBUHKAN DALAM SUBSTRAT CAMPURAN LIMBAH MINYAK GORENG DAN MOLASE TEBU

Anis Fitriani

19/452245/PBI/01673

INTISARI

Polihidroksialkanoat (PHA) merupakan poliester alami yang dapat diproduksi oleh mikroorganisme, seperti bakteri dan alga. Permasalahan dalam produksi PHA adalah kebutuhan substrat yang mengandung karbon tinggi dan biaya mahal. Substrat alternatif yang murah dan dapat memenuhi kebutuhan bakteri untuk memproduksi PHA sangat dibutuhkan. Substrat dari limbah pabrik gula berupa molase tebu dan limbah minyak goreng (jelantah) dipilih sebagai alternatif substrat karena kandungan karbonnya yang tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pertumbuhan bakteri dalam media dengan substrat molase tebu, limbah minyak goreng, campuran molase tebu dan limbah minyak goreng, mengetahui produksi PHA yang dihasilkan oleh bakteri selama inkubasi, serta mengetahui karakteristik PHA dan gen *phaC* yang dihasilkan. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan optimasi bakteri untuk produksi PHA pada media MSM (*Mineral Salt Medium*) dengan konsentrasi sumber karbon 2%, 4%, dan 6% dengan ulangan sebanyak 3 kali. Optimasi dilakukan selama 2 hari, pengukuran uji kualitatif dengan *Sudan Black B* 3%. 20 ml inokulum bakteri diambil untuk pemanenan dan pengeringan bakteri menggunakan metode *freeze drying* untuk mengetahui pertumbuhan dan berat biomasanya. Data pertumbuhan bakteri selama optimasi dianalisis menggunakan statistik *oneway ANOVA SPSS v26* dan uji lanjut menggunakan *Duncan*. Biomassa bakteri kemudian diekstraksi, kemudian dilakukan pengujian menggunakan GCMS untuk mengetahui jenis PHA. Selanjutnya dilakukan deteksi gen *phaC* dan sekuensing pada bakteri. Pertumbuhan bakteri paling tinggi pada medium MSM dengan persentase sumber karbon 6%. Uji kualitatif menggunakan *Sudan Black B* 3% menunjukkan hasil positif dengan terserapnya warna biru kehitaman pada koloni bakteri dan granula bakteri. Berdasarkan hasil GCMS, jenis PHA yang terkandung merupakan SCL PHA yaitu *poly hidroxybutirate* (PHB). Hal ini selaras dengan pengamatan secara molekuler, dimana *partial sequence* gen *phaC* teramplifikasi pada 644 bp. bakteri S3 mengandung asam amino *pha* sintase kelas IV yang identik dengan *Bacillus cereus*.

Kata kunci : polihidroksialkanoat (PHA), molase, limbah minyak goreng, bioplastik, gen *phaC*

**PRODUCTION OF POLYHYDROXIALKANOATES AND DETECTION OF *phaC*
GENE IN *Bacillus cereus* GROWN IN A MIXED SUBSTRATE OF COOKING OIL
WASTE AND SUGARCANE MOLASSES**

Anis Fitriani

19/452245/PBI/01673

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoate (PHA) is a natural polyester that can be produced by microorganisms, such as bacteria and algae. The problem in the production of PHA is the need for a substrate that contains high carbon and is expensive. Alternative substrates that are cheap and can meet the needs of bacteria to produce PHA are urgently needed. The substrate from sugar factory waste in the form of sugarcane molasses and waste cooking oil (cooking oil) was chosen as an alternative substrate because of its high carbon content. The purpose of this study was to determine the growth of bacteria in media with sugarcane molasses substrate, cooking oil waste, a mixture of sugarcane molasses and cooking oil waste, to determine the production of PHA produced by bacteria during incubation, and to determine the characteristics of PHA and the resulting *phaC* gene. This research was conducted by optimizing bacteria for PHA production on MSM (Mineral Salt Medium) media with a concentration of 2%, 4%, and 6% carbon sources with 3 replications. Optimization was carried out for 2 days, measuring a qualitative test with Sudan Black B 3%. 20 ml of bacterial inoculum was taken for harvesting and drying of bacteria using the freeze drying method to determine the growth and weight of the biomass. Bacterial growth data during optimization were analyzed using Oneway ANOVA SPSS v26 statistic and further test using Duncan. The bacterial biomass was then extracted, then tested using GCMS to determine the type of PHA. Furthermore, the detection of the *phaC* gene and sequencing in bacteria was carried out. The highest bacterial growth was on MSM media with a percentage of 6% carbon source. Qualitative test using Sudan Black B 3% showed positive results with the absorption of blue-black color on bacterial colonies and bacterial granules. Based on the results of GCMS, the type of PHA contained is SCL PHA, namely poly hydroxybutyrate (PHB). This is consistent with molecular observations, where the partial sequence of the *phaC* gene was amplified at 644 bp. Bacteria S3 contains the amino acid pha synthase class IV which is identical to *Bacillus cereus*.

Key words : polyhydroxyalkanoate (PHA), molase, cooking oil waste, bioplastic, *phaC* gene