



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Eksplorasi Potensi Senyawa Antibakteri Berbasis Peptida dari Hidrolisat Protein *Gracilaria* spp.
Klara Kharisma Bunga Chandra, Prof. Tri Joko Raharjo, S.Si., M.Si., Ph.D., Tri Rini Nuringtyas, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Universitas Gadjah Mada, 2024 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

HALAMAN PENGESAHAN
TESIS

Eksplorasi Potensi Senyawa Antibakteri Berbasis Peptida dari Hidrolisat Protein *Gracilaria* spp.
disusun oleh :

Klara Kharisma Bunga Chandra

21/485381/PMU/10857

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal 23 Juni 2023

Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama

Ketua Penguji

Prof. Dr. Tri Joko Raharjo, M. Si
NIP. 197306121999031002

Dr. Dini Wahyu Kartika Sari
NIP. 1979080220140920003

Pembimbing Pendamping

Anggota Tim Penguji lain

Dr. Tri Rini Nuringtyas, M. Sc
NIP. 197303271999032002

Respati Tri Swasono, S.Si., M.Phil., Ph.D
NIP. 197404251999031002

Tesis ini diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar master
Tanggal 23 Juni 2023
Ketua Program Studi Bioteknologi

Dr. Dini Wahyu Kartika Sari
NIP. 1979080220140920003

Mengetahui,
Wakil Dekan Bidang Akademik Kemahasiswaan dan Kerjasama Sekolah Pascasarjana

Dr. Widyanto Dwi Nugroho, S.Hut., M.Agr
NIP. 197804192002121004



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	2
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR GAMBAR	7
DAFTAR TABEL	8
DAFTAR SINGKATAN	9
INTISARI	10
ABSTRACT	11
BAB I. PENDAHULUAN	12
A. LATAR BELAKANG	12
B. PERMASALAHAN	14
C. KEASLIAN PENELITIAN	14
D. TUJUAN	14
E. MANFAAT	15
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	16
A. TINJAUAN PUSTAKA	16
1. <i>Gracilaria</i> spp.	16
2. Peptida Antimikrobia	18
3. Peptida Aktif dan senyawa proteina dari Rhodophyta	20
4. Fraksinasi peptida antimikrobia	24
B. LANDASAN TEORI	26
C. HIPOTESIS	27
BAB III. METODE PENELITIAN	28
A. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN	28
B. ALAT DAN BAHAN	28
1. Alat	28
2. Bahan.....	28
C. RANCANGAN PENELITIAN	29
D. PROSEDUR KERJA	30
1. Preparasi dan Ekstraksi <i>Gracilaria</i> spp.....	30
2. Presipitasi protein dengan TCA Aseton dan Aseton	31
3. Hidrolisis Protein Alga.....	31
4. Analisis SDS-PAGE.....	32
5. Purifikasi dan fraksinasi peptida dengan <i>Ion-Exchange</i>	32
6. Uji aktivitas antibakteri terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	33
7. Identifikasi senyawa aktif peptida dengan LC-HRMS.....	35
E. ANALISIS DATA	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. HASIL	38
1. Ekstraksi protein <i>Gracilaria</i> spp.	38
2. Hidrolisis protein dengan enzim tripsin	41
3. Uji aktivitas antibakteri	42
4. Analisis peptida dengan LC-HRMS.....	46



5.	Analisis in-silico model penambatan substrat dengan peptida.....	47
B.	PEMBAHASAN.....	51
1.	Analisis sampel dan ekstraksi protein kasar.....	51
2.	Analisis proteomik dan fraksinasi peptida	54
3.	Uji aktivitas antibakteri	57
4.	Analisis peptida dengan <i>Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry</i>	64
5.	Analisis <i>in-silico</i>	73
BAB V.	PENUTUP.....	87
A.	KESIMPULAN.....	87
B.	SARAN	88
DAFTAR PUSTAKA.....		89
LAMPIRAN.....		95



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diversitas <i>Gracilaria</i> spp. di Indonesia	17
Gambar 2. Lektin alga merah griffithsin dan scytovirin (Takebe et al., 2013).....	22
Gambar 3. Diagram alir penelitian.....	30
Gambar 4. Cartridge Hypersep Retain PEP	32
Gambar 5. Hypersep Retain PEP	33
Gambar 6. Presipitat protein metode Aceton	40
Gambar 7. Presipitat protein metode TCA/aceton	40
Gambar 8. Analisis SDS-PAGE	42
Gambar 9. Disc diffusion bakteri <i>S. aureus</i>	43
Gambar 10. Disc diffusion bakteri <i>E.coli</i>	44
Gambar 11. Model 1 penambatan DraE dengan VVINADAK	48
Gambar 12. Model 2 penambatan DraE dengan VVINADAK	49
Gambar 13. Model 1 penambatan DraE (reseptor;magenta) dengan EVT(peptida;hijau)	49
Gambar 14. Model 2 penambatan DraE (reseptor;magenta) dengan EVT(peptida;hijau)	49
Gambar 15. Interaksi antara ligan kloramfenikol (ligan) dengan DraE (reseptor)	50
Gambar 16. Reaksi enzim tripsin (Weitzel et al., 2011).....	55
Gambar 17. Kurva kontrol pertumbuhan bakteri pada berbagai pengenceran	60
Gambar 18. Plate elisa reader	61
Gambar 19. Perbandingan inhibisi pertumbuhan bakteri selama 30 menit dan 24 jam.	62
Gambar 20. Perbandingan inhibisi pertumbuhan bakteri selama 30 menit dan 24 jam.	62
Gambar 21. Uji MIC terhadap <i>S. aureus</i>	63
Gambar 22. Uji MIC terhadap <i>Escherichia coli</i>	63
Gambar 23. Spektrum terbaca dari peptida SIVNADAEAR.....	67
Gambar 24. Spektrum dari sekuens EVTSSLVGTDAGK.....	69
Gambar 25. Ilustrasi kompleks allophycocyanin pada dinding sel alga.....	69
Gambar 26. Kompleks Cpe pada proses	70
Gambar 27. Spektrum dari sekuens VVINADAK.....	71
Gambar 28. Gambar struktur sekunder peptida	76
Gambar 29. Model 3D SVINADAEAR bentuk heliks dan coil	76
Gambar 30. Model 3D peptida VVINADAK dengan PEP-fold 4.0.....	78
Gambar 31. Model 3D peptida EVTSSLVGTDAGK	79
Gambar 32. Kloramfenikol (CATIII) dengan ketoacylsynthase pada <i>E.coli</i>	80
Gambar 33. Kloramfenikol (ligan)	81
Gambar 34. Kompleks DraE dan kloramfenikol pada sisi aktifnya (Pettigrew et al., 2009).....	81
Gambar 35. Model 2D interaksi ligan (kloramfenikol) dan substrat (DraE)	82
Gambar 36. Penambatan peptida (EVT 1.1) terhadap substrat DraE.	83
Gambar 37. Penambatan peptida (EVT 1.2) terhadap substrat DraE.	83
Gambar 38. Penambatan peptida (VV 2.1) terhadap substrat DraE.	84
Gambar 39. Penambatan peptida (VV 2.2) terhadap substrat DraE.	84



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kadar protein (% dry basis) dari berbagai spesies makroalga	21
Tabel 2. Identifikasi sampel makroalga	38
Tabel 3. Analisis proksimat Gracilaria	39
Tabel 4. Analisis konsentrasi protein kasar	40
Tabel 5. Hasil hidrolisis enzim tripsin pada berbagai konsentrasi	41
Tabel 6. Absorbansi dan konsentrasi peptida dengan reagen BCA	42
Tabel 7. Pengukuran zona hambat bakteri	43
Tabel 8. Pengukuran kuantitatif antibakteri pada medium cair	45
Tabel 9. Pengukuran kuantitatif antibakteri pada medium cair	45
Tabel 10. Sekuens peptida fraksi dari LC-HRMS	46
Tabel 11. Model penambatan substrat DraE dengan peptida.....	50
Tabel 12. kompleks allophycocyanin Rhodophyta	67
Tabel 13. Pembacaan ion b+ dan y+ pada waktu retensi menit ke 8,7599.	68
Tabel 14. Pembacaan ion b+ dan y+ pada waktu retensi menit ke 4,7016.	71
Tabel 15. Struktur sekunder peptida dan karakteristiknya	73
Tabel 16. Prediksi struktur sekunder sekuens peptida	77