

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Vanilin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid, $C_8H_8O_3$) merupakan senyawa organoleptik yang banyak digunakan sebagai pemberi aroma dan penyedap dalam industri makanan, kosmetik, farmasi, medis, dan berbagai industri lainnya¹. Total kebutuhan tahunan vanilin secara global pada tahun 2022 dilaporkan sebesar 627,1 juta USD dan diperkirakan akan terus meningkat sebesar 7,5% selama periode tahun 2023 hingga 2030². Total kebutuhan pasar asia pasifik akan vanilin diperkirakan mengalami pertumbuhan 9,0% pada periode tahun 2023-2030³. Peningkatan kebutuhan pasar akan vanilin yang signifikan memerlukan produksi vanilin yang efektif dan efisien.

Vanilin dapat diproduksi melalui tiga cara, yaitu ekstraksi dari tumbuhan vanila, sintesis kimia, dan biosintesis⁴. Ekstraksi vanilin dari polong vanila membutuhkan banyak tenaga kerja, dipengaruhi oleh iklim terhadap pertumbuhan tanaman vanila dengan hasil rendemen yang rendah. Produksi vanilin alami terbesar diperoleh dari tumbuhan *Vanilla planifolia* dengan harga pasar 1200 – 4000 \$ per kg dan tergolong mahal⁵. Upaya dalam memenuhi kebutuhan pasar akan vanilin dengan harga relatif rendah dilakukan sintesis secara kimia dengan harga pasar 15 \$ per kg, namun upaya ini memiliki beberapa kekurangan diantaranya vanilin yang dihasilkan memiliki kemurnian yang rendah, proses produksi berbahaya dan menghasilkan polusi^{6,1}. Upaya sintesis secara kimia ini berbanding terbalik dengan permintaan konsumen akan produk alami yang semakin meningkat. Bioteknologi untuk biosintesis vanilin berdasarkan biotransformasi senyawa alami seperti eugenol, isoeugenol, asam ferulat, dll menggunakan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi sebagai inang produksi mikroba banyak dikembangkan⁷.

Biotransformasi dapat dilakukan menggunakan sel utuh mikroorganisme dan enzim spesifik. Biotransformasi menggunakan sel utuh salah satunya yaitu dilakukan biotransformasi isoeugenol menjadi vanilin menggunakan isolat bakteri *Bacillus sp.* Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi vanilin tertinggi dihasilkan oleh isolat *Bacillus cereus* strain SBMAX30, dimana dengan masa inkubasi 72 jam diperoleh 0,421 g/L vanilin dari isoeugenol⁸. Biotransformasi menggunakan sel utuh memiliki kekurangan dimana penggunaan sel yang sedang tumbuh dapat mengalihkan energi metabolisme pembentukan produk menjadi pembentukan biomassa⁹. Selain itu, substrat yang bersifat toksik dapat membunuh mikroorganisme dan menghambat

proses biotransformasi¹⁰. Dengan demikian diperlukan optimasi biotransformasi melalui penggunaan enzim spesifik.

Enzim utama untuk biotransformasi isoeugenol menjadi vanilin ialah *isoeugenol monooxygenase* (*iem*)¹. *Iem* mampu mengkatalisis oksidasi ikatan rangkap isoeugenol untuk membentuk vanilin tanpa kofaktor¹¹. Pencarian melalui *data base* enzim (*KEGG Enzyme*) menunjukkan bahwa sejauh ini ada tiga gen dari *Pseudomonas putida* IE27, *Pseudomonas notroreducens* Jin1, dan *Pseudomonas* sp. yang telah diidentifikasi sebagai *iem*¹. Vanilin yang dihasilkan melalui biotransformasi menggunakan *iem*, yaitu sebesar 4,1 g/L dibawah kondisi optimal setelah reaksi selama 40 jam¹². Pentingnya peran *iem* dalam biokatalis pembentukan vanilin menjadi perlu untuk mencari *iem* yang bersumber dari bakteri lain karena belum ada data mengenai *iem* selain yang berasal dari *Pseudomonas*. Berdasarkan data dari GenBank *Bacillus cereus* strain BAG6O-2 memiliki beberapa *hypothetical protein* *iem*. Penelitian terkait protein yang dihipotesiskan sebagai *iem* dari *Bacillus cereus* BAG6O-2 tersebut juga belum dipublikasikan.

Berdasarkan uraian di atas, optimasi biotransformasi dengan enzim spesifik menjadi perlu untuk dikembangkan lebih lanjut dengan mengisolasi dan membuat rekombinan *iem* sehingga produksi vanilin menjadi lebih efisien dan vanilin yang dihasilkan meningkat. Kemampuan biokonversi *Bacillus cereus* strain SBMAX30 dalam biotransformasi isoeugenol menjadi vanilin memungkinkan adanya *iem* dalam strain bakteri tersebut. Dengan demikian, perlu untuk melakukan isolasi *iem* dari *Bacillus cereus* SBMAX30 dan melakukan analisis bioinformatika terhadap urutan gen yang diperoleh.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana rancangan primer untuk penentuan gen *isoeugenol monooxygenase* (*iem*) dari bakteri *Bacillus cereus* SBMAX 30 secara bioinformatika?
2. Bagaimana struktur putatif protein *iem* dari bakteri *Bacillus cereus* SBMAX30?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Merancang urutan primer *iem* yang bisa memprediksi gen *iem* dari bakteri *Bacillus cereus* SBMAX 30 secara bioinformatika.
2. Menentukan struktur putatif protein lem dari bakteri *Bacillus cereus* SBMAX30.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini bermanfaat untuk meningkatkan hasil produksi vanillin dari isoeugenol dengan bantuan *isoeugenol monooxygenase* yang telah diprediksi secara *in silico*.

