

Bidang Ilmu: MIPA

HIBAH BERSAING PERGURUAN TINGGI
LAPORAN AKHIR PENELITIAN TAHUN I



**KULTIVASI, KARAKTERISASI DAN PEMBUATAN PUSTAKA GENOM
BAKTERI-BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT JAWA TENGAH
SERTA STUDI POTENSI ENZIM-ENZIM TERMOSTABIL**

Agustina L.N.Aminin, M.Si.

Fida Ma'ayanti, Ph.D.

Dra, Nies Suci Mulyani, MS

UPT-PUSTAKA-UNDIP

No. Daft: ... 268 / K / F.MIPA / 09

Tgl. : ... 06 / 09

Dibiayai Oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penugasan Penelitian Desentralisasi Tahun Anggaran 2007, Nomor 014/SP2H/PP/DP2M/III/2007 tanggal 29 Maret 2007

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS DIPONEGORO- SEMARANG

Nopember 2007

**Halaman Pengesahan Naskah Artikel
Hibah Bersaing Pereguruan Tinggi**

1. Judul Penelitian : Kultivasi, Karakterisasi, dan Pembuatan Pustaka Genom bakteri-Bakteri Termofilik Isolat Jawa Tengah Serta Studi Potensi Enzim-Enzim Termostabil

2. Ketua Peneliti

- a). Nama : Agustina L.N.A, SSi., MSi./ NIP 132 231 662
- b). NIP : 132231662
- c) Bidang Keahlian : Biokimia (Molekuler Biologi)
- d). Jabatan Struktural : -
- e) Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- f) Fakultas/Jurusan : F MIPA /Kimia
- g) Perguruan Tinggi : Univesrsitas Diponegoro
- h) Anggota Peneliti :

No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1	DR. Fida Madayanti	Biokimia	FMIPA/Kimia	ITB
2.	Dra. Nies Suci Mulyani, MS	Biokimia	FMIPA/Kimia	UNDIP

3. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian

- a.). Jangka Waktu yang diusulkan : 2 Tahun
- b). Biaya Total yang diusulkan : Rp. 90.000.000
- c). Biaya yang disetujui Tahun I : Rp. 40.000.000

Semarang, 25 Nopember 2007

Ketua Peneliti

Agustina L.N.A, SSi., MSi.
NIP. 132 231 662



A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN

Isolasi mikroba termofilik dari sumber air panas sekitar Jawa Tengah merupakan upaya lanjut dalam rangka eksplorasi lebih mendalam terhadap berbagai potensi yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Kultur mikroba dari dua sumber air panas di kawasan vulkanik Gedongsongo, Ambarawa telah berhasil dikultivasi dalam beberapa medium sintetik sehingga didapatkan koleksi kultur yang *reproducible*. Koleksi kultur tersebut diperoleh dari dua macam media kultivasi yang didisain mirip dengan kondisi air sumber dengan penambahan nutrisi minimal yang bervariasi dan ditumbuhkan baik secara aerobik maupun anaerobik. Media pertama merupakan BSM (Basal Salt Medium) dengan pH dibuat 6 sedangkan media kedua adalah media DSMZ 261 dengan pH 4. Beberapa isolat tunggal telah dipilih dari masing-masing kultur medium berdasarkan perbedaan bentuk koloni. Koleksi isolat tunggal selanjutnya diidentifikasi baik secara fenotipik maupun genotipik (gen lengkap 16S rRNA). Berdasarkan uji morfologi, seluruh koleksi isolat tunggal merupakan gram negatif dengan variasi bentuk batang dan coccus. Sebagian besar isolat berhasil diisolasi DNA kromosomnya dan digunakan sebagai templat untuk amplifikasi gen lengkap 16S rRNA. Namun beberapa diantaranya belum berhasil diisolasi DNA kromosomnya sehingga tidak bisa dilakukan identifikasi genotipik. Uji genotipik telah berhasil dilakukan terhadap 15 isolat dan telah teridentifikasi sebagai strain-strain baru sebagai strain unik Indonesia. Strain yang berhasil diperoleh diantaranya delapan strain masuk golongan *Geobacillus*, 5 strain merupakan golongan *Alicyclobacillus*, satu strain *Thermus* dan satu lagi merupakan kelompok *unidentified bacteria*. Uji terhadap potensi enzim ekstraseluler terhadap beberapa strain menunjukkan bahwa diantaranya memiliki enzim ekstraselular amilase, protease, dan/atau galaktosidase.

SUMMARY

The isolation of thermophiles from the hot springs around Central Java is a continued attempt of the advance exploration of their prospective. The reproducible thermophilic cultures of two hot springs from Gedongsongo, Ambarawa volcanic area has been got using some synthetics medium. Two kinds of basic medium with various minimum nutrition were used for culturing the bacteria, both are anaerobic and aerobically. The first basic medium was BSM (Basal Salt Medium) with pH 6 and the other using DSMZ 261 pH 4. A number of single isolates have been chosen for further identification from each culture according to their difference colony morphology. Afterward, this collection was identified their phenotypic and genotypic characters. According to the cell morphology examination, all isolates is gram negative with coccus or bacilli cell types. Most of them have been extracted their chromosomal DNA and used as a template for the amplification of their complete 16S rRNA gene sequence. Fifteen isolates have been characterized genotypically as the new unique strains of Indonesia. Those are: eight strains that closely related to the *Geobacillus*, five strains closely related to *Alicyclobacillus*, one *Thermus* dan the other is *unidentified bacteria*. The extracellular enzymes characterization toward few strains showed that some of them having amylase, protease, and/or galactosidase.

PRAKATA

Kemajuan ilmu pengetahuan dan pendidikan di Indonesia tidak mungkin dicapai tanpa adanya pengembangan penelitian di berbagai bidang. Salah satu program pendanaan penelitian yang diberikan Pemerintah RI adalah Hibah Bersaing. Melalui program Hibah Bersaing XV ini kami selaku pendidik dan peneliti mendapatkan kesempatan sangat berharga untuk terlibat aktif memacu budaya meneliti demi memajukan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang MIPA. Untuk itu para peneliti hendak mengucapkan terima kasih pada pemerintah RI melalui Depdiknas yang telah memberi perhatian pada penelitian dibidang biokimia khususnya.

Para peneliti juga mengucapkan terima kasih atas dukungan yang diberikan dari LPPM-Universitas Diponegoro, Fakultas MIPA serta Jurusan Kimia. Demikian pula kami sampaikan terima kasih atas kerjasama yang baik khususnya Kelompok Keahlian (KK) Biokimia ITB yang telah menyediakan fasilitas peralatan yang memadai sehingga penelitian dapat berjalan sebagaimana mestinya.

Besar harapan kami, kerjasama dan dukungan yang telah terjalin ini dapat berkelanjutan dan bisa lebih ditingkatkan pada tahun-tahun mendatang

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
A. LAPORAN HASIL PENELITIAN	
RINGKASAN DAN SUMMMARY	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
BAB IV. METODE PENELITIAN	8
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
BAB VI. KESIMPULAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22
B. SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN	25
LAMPIRAN	26

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Karakteristik masing-masing koloni	13
Tabel 2. Hasil studi perbandingan dengan database Genbank	17
Tabel 3. Variasi basa nukleotida pada gen 16S rRNA	17
Tabel 4. Hasil uji enzim ekstraseluler beberapa strain	20

DAFTAR GAMBAR

	H&l.
Gambar 1. Koleksi isolat tunggal bakteri termofilik pada medium dasar BSM pH 6	11
Gambar 2. Koleksi isolat tunggal bakteri termofilik pada medium sintetik pH 4	12
Gambar 3. Morfologi sel koleksi isolat tunggal yang dipilih berdasar perbedaan bentuk koloni	14
Gambar 4. Elektroforegram hasil ekstraksi total DNA kromosom beberapa isolat tunggal bakteri	15
Gambar 5. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA kromosom isolat bakteri.....	15
Gambar 6. Contoh histogram hasil sekuensing isolat ANBae-10 dengan primer Bac F1	16
Gambar 7,. Pohon filogeni strain baru <i>Geobacillus</i>	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Beberapa data hasil sekuensing (3 contoh)	26
Daftar Riwayat Hidup PerelitiUtama	29
Daftar Riwayat Hidup Anggota Peneliti1.	31
Daftar Riwayat Hidup Anggota Peneliti 2.	38

BAB I. PENDAHULUAN

Latar belakang

Pemanfaatan enzim dalam proses industri terus menerus mengalami pertumbuhan disebabkan oleh pertimbangan berbagai keuntungan dalam penerapannya pada sistem katalisis yang bersifat alami. Kebutuhan akan bahan-bahan kimia yang secara enantiomerik baik serta ramah lingkungan di dalam prosesnya menjadikan proses enzimatik ini lebih diminati. Teknologi-teknologi baru yang terus dikembangkan bagi penemuan dan optimasi enzim-enzim baru memungkinkan bagi pengaplikasian enzim-enzim ini di dalam proses industri yang memiliki kondisi keras serta memerlukan selektifitas tinggi (Robertson and Steer, 2004).

Sumber enzim-enzim baru yang potensial adalah ekstremofilik, bakteri yang tumbuh pada lingkungan ekstrim. Pada dasarnya seluruh bagian bumi meliputi lingkungan perairan, laut serta tempat hunian manusia, merupakan media yang mendukung pertumbuhan beragam populasi mikroba. Keberhasilan mengkultivasi ekstremofilik dan mengisolasi gen-gen dari organisme yang mampu tumbuh dalam berbagai lingkungan ekstrim ini menjanjikan bentuk-bentuk aplikasi enzim yang revolusioner dan luas. Kunci keberhasilan untuk mendapatkan gen-gen tersebut adalah teknologi kultivasi dan pembuatan pustaka genom, digabung dengan uji ekspresi yang spesifik atau metode hibridisasi berdasarkan urutan gennya (Short, 1997; Gray *et al.*, 2003).

Studi keragaman mikroba termofilik berdasarkan urutan gen 16S rRNA telah dilakukan terhadap komunitas bakteri dari beberapa sumber air panas di sekitar Jawa Tengah. Beberapa bakteri yang teridentifikasi merupakan bakteri-bakteri yang telah berhasil dikulturkan di laboratorium namun masih menggunakan medium yang berasal dari air sumber alam asli yang diperkaya dengan sumber C dan N serta masih dalam bentuk kultur campuran. Bakteri-bakteri dari kultur sumber air panas Gedongsongo, Ambarawa yang telah teridentifikasi melalui teknik DGGE diantaranya beberapa mikroba mirip *Thermus sp.*, serta beberapa mikroba dari kelompok bakteri yang belum berhasil dikulturkan sebelumnya (*uncultured bacterium*) (Aminin *et al.*, 2005).

Dari sumber air panas Pancuran 7, Baturraden, Purwokerto telah teridentifikasi bakteri-bakteri mirip kelompok *Anoxybacillus sp.* dan *Geobacillus sp.* Salah satu kultur tunggal yang berhasil ditumbuhkan, memiliki kemiripan tinggi dengan *Geobacillus lituanicus* dan telah teruji memiliki enzim ekstraseluler β -galaktosidase, protease, dan amilase (Aminin *et al.*, 2006).