

Ilmu Dasar



**KARAKTERISASI KERAGAMAN BAKTERI TERMOFILIK  
SUMBER AIR PANAS GEDONGSONGO MELALUI PENENTUAN  
SSCP DARI GEN-GEN PENGKODE 16S rRNA**

**LAPORAN KEGIATAN**

Oleh:

**Dra. Nies Suci Mulyani, MS.**

**Agustina L.N.A., SSi., MSi.**

**Dra. Susiana Purwantisari, MSi.**

---

**Dibiayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi, Departemen  
Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian  
Ilmu Dasar**

**Nomor: 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005 Tanggal 11 April 2005**

**FAKULTAS MIPA  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
DESEMBER, 2005**

**UPT-PUSTAK-UNDIP**

No. Daft. *255 / K / MIPA / C.1*

Tgl. *22 - 6 - 06*

# **Karakterisasi Keragaman Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedong Songo Melalui Penentuan SSCP dari Gen-Gen Pengkode 16S rRNA**

**N.S. Mulyani<sup>1</sup>, A.L.N. Aminin<sup>1</sup>, S. Purwantisari<sup>2</sup>**  
*Jurusan Kimia<sup>1</sup> dan Biologi<sup>2</sup>, Universitas Diponegoro, Semarang*

## **RINGKASAN**

Studi keragaman bakteri pada salah satu sumber air panas di lapangan vulkanik Gedongsongo (GS1), Ungaran, Jawa Tengah; telah dilakukan menggunakan metode yang didasarkan atas analisis urutan gen 16S rRNA. Analisis keragaman dilakukan dengan mengisolasi bakteri termofilik melalui dua pendekatan yaitu filtrasi menggunakan membran filter dengan pori-pori 0.2- $\mu$ m dan kultivasi menggunakan dua macam minimal media yaitu GYa dan GTa yang ditumbuhkan secara anaerob. Seluruh isolat bakteri, diekstraksi DNA kromosomnya dan digunakan sebagai templat untuk proses amplifikasi fragmen gen 16S rRNA dengan teknik PCR. Sasaran dari penggunaan pasangan primer Com1F dan Com2R adalah daerah variabel tinggi V4 dan V5 dari gen 16S rRNA untuk kelompok eubakteria. Pasangan primer ini telah berhasil mengamplifikasi fragmen DNA sepanjang 400 pb. Analisis komunitas dilakukan menggunakan teknik SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphism*) atas dasar pemisahan fragmen DNA dengan urutan nukleotida berbeda. Profil SSCP yang diperoleh menunjukkan adanya dua pita tajam dari kultur GYa dan GTa yang sejajar satu sama lain mewakili masing-masing dua strain yang tumbuh baik pada masing-masing kultur. Sedangkan pita dalam jumlah cukup banyak tampak pada profil SSCP isolat hasil filtrasi (GS-F), namun hanya tiga pita yang tampak cukup tajam dan mewakili strain dominan pada habitat ini.

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas  
Diponegoro, Kontrak Nomor: 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005  
Tanggal 11 April 2005

# **Thermophilic Diversity Characterization of Gedong Songo Hot Spring through SSCP Analysis of 16S rRNA Gene Sequence**

**N.S. Mulyani<sup>1</sup>, A.L.N. Aminin<sup>1</sup>, S. Purwantisari<sup>2</sup>**  
*Department of Chemistry<sup>1</sup> and Biology<sup>2</sup>, Diponegoro University, Semarang*

## **SUMMARY**

Identification of the bacterial communities from one of hot stream at Gedongsongo (GS1), Ungaran, Central Java; was carried out using molecular analysis based on the 16S rRNA gene. Two minimal media, GYa and GTa were used for growth of anaerobic microbial communities. Cultures media were combined by filtration through 0.2- $\mu$ m-pore-size filter for total genomic DNA extraction. PCR amplifications of partial 16S rRNA gene sequences were performed with chromosomal DNA extracted from cells of filtration and cultures using Com1F and Com2R primers targeting the V4–V5 region of eubacterial 16S rRNA genes. These primers amplified about 400-bp section of the 16S rRNA genes. The Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) was used to analyze the community based on difference in fragment DNA sequence. The SSCP profiles showed that there are a lot of bands but only three of them are distinct bands that represent the bacteria from filtration. Another two bands from GTa and two bands from GYa represent the bacteria that can growth well in these mediums.

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Diponegoro University, Contract Number: 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005

11 April 2005

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah kami panjatkan kehadirat ALLOH SWT, sebab dengan Ridhonya telah menghantarkan kami dalam menyelesaikan penelitian Ilmu Dasar yang didanai oleh dana DP3M Dirjen Dikti tahun anggaran 2005/2006. Penelitian diimplementasikan bagi peningkatan kualitas dan kuantitas riset institusional di Laboratorium Biokimia – Jurusan Kimia, FMIPA – UNDIP Semarang. Perkembangan informasi dan penelitian dalam bidang Bioteknologi menuntut kami untuk melakukan berbagai upaya pengembangan pada bidang tersebut untuk bisa diterapkan di Laboratorium kami.

Beberapa kendala yang terjadi selama pelaksanaan penelitian, memberikan pengalaman berarti yang sangat berguna bagi pelaksanaan penelitian pada bidang serupa di masa yang akan datang. Kami menyampaikan banyak terima kasih kepada kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan maupun dukungan bagi terlaksananya penelitian. Demikian pula halnya kepada pimpinan DP3M Dirjen Dikti, Lembaga Penelitian UNDIP, Fakultas MIPA, dan Jurusan Kimia UNDIP yang telah memberikan fasilitas bagi terlaksananya penelitian Ilmu Dasar ini.

## Daftar Isi

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN .....	iii
SUMMARY .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	2
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	6
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN .....	7
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	10
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	17
DAFTAR PUSTAKA .....	18

## BAB I

### PENDAHULUAN

Kemajuan bidang biokatalis dalam dekade terakhir ditandai dengan meningkatnya pencarian bakteri ekstremofil. Biokatalis dari mikroorganisme ekstrim (ekstremozim) makin diminati karena memiliki beberapa sifat terapan lebih menguntungkan terutama bagi industri. Ekstremozim merupakan enzim yang bisa digunakan secara efektif pada temperatur, pH, atau pelarut organik ekstrim dalam proses industri. Selain perannya di dalam bidang industri, penelitian terhadap bakteri ekstremofil juga memiliki peran penting dalam perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam studi filogeni (Adams, 1995).

Salah satu sumber yang cukup potensial adalah bakteri termofilik yang tumbuh pada sumber air panas. Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber air panas, namun hingga saat ini belum banyak peneliti dari Indonesia yang berupaya melakukan identifikasi terhadap komunitas mikroorganisme ekstremofilik dari sumber alam Indonesia serta masih sangat sedikit upaya dalam eksplorasi enzim-enzim yang berasal dari bakteri termofilik.

Salah satu kendala dalam eksplorasi bakteri termofilik adalah sangat sulit untuk mengkulturkan bakteri termofilik pada skala laboratorium. Torsvik *et al.* (1990) melaporkan bahwa hingga saat ini baru 1 % mikroorganisme di alam yang bisa dikulturkan. Metode yang dapat diandalkan bagi penentuan keragaman mikroba pada suatu lingkungan telah lama dicari oleh para ahli mikrobiologi. Metode mikroskopi dan kultivasi sangat terbatas penggunaannya, dimana keragaman mikroorganisme dapat berbagi kesamaan dalam ciri morfologi sederhana dan keterbatasan pendeteksian pada metode kultivasi yang tumbuh berdasarkan media yang disediakan. Perkembangan teknik analisis urutan nukleotida gen 16S ribosomal RNA (rRNA) dalam sampel alamiahnya telah meningkatkan kemampuan kita untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri di alam. Hal ini menjadi solusi bagi studi biodiversitas dimana hanya sebagian kecil spesies bakteri yang bisa diisolasi dalam kultur (Ferris *et al.*, 1996).