

## HALAMAN PENGESAHAN

### Lembar Pengesahan I

Judul Tugas Akhir I: IDENTIFIKASI FRAGMENT GEN 16S rRNA BAKTERI  
TERMOFILIK HASIL ISOLASI DARI SUMBER AIR  
PANAS GEDONG SONGO

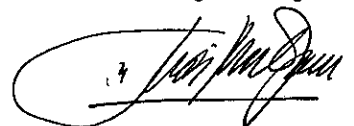
Nama : Helin Yudhi Suprpti

NIM : J2C001149

Telah diuji dan dinyatakan lulus pada ujian sarjana pada tanggal 15 Desember 2005

Semarang, Desember 2005

Ketua Panitia Ujian Sarjana



Dra. Nies Suci Mulyani, MS  
NIP. 131 597 639

Ketua Jurusan Kimia



## HALAMAN PENGESAHAN

### Lembar Pengesahan II

Judul Tugas Akhir I: IDENTIFIKASI FRAGMENT GEN 16S rRNA BAKTERI  
TERMOFILIK HASIL ISOLASI DARI SUMBER AIR  
PANAS GEDONG SONGO


Nama : Helin Yudhi Suprpti

NIM : J2C001149

Telah disetujui dan layak untuk diuji pada ujian sarjana

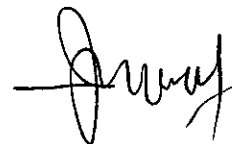
Semarang, Desember 2005

Pembimbing I



Dra. Nies Suci Mulyani, MS  
NIP. 131 597 639

Pembimbing II



M. Asy'ari, M.Si  
NIP. 132 204 998

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kemudahan sehingga penelitian dan penulisan skripsi dengan judul '**Identifikasi Fragmen Gen 16S rRNA Bakteri Termofilik Hasil Isolasi dari Sumber Air Panas Gedong Songo**' ini dapat selesai pada waktunya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana di Universitas Diponegoro Semarang.

Keberhasilan penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak, ucapan terimakasih kepada Agustina L.N. Aminin, M.Si atas semua ide, pengetahuan dan kesempatan bereksperimen sehingga mempermudah penelitian yang penulis lakukan. Dr. Akhmaloka, selaku Ketua Departemen Kimia Institut Teknologi Bandung, atas kesempatan bereksperimen yang diberikan. Dra. Nies Suci Mulyani, MS., selaku dosen pembimbing pertama. M. Asy'ari, M.Si, selaku dosen pembimbing kedua. Staff Jurusan Kimia pada umumnya dan Staff Biokimia pada khususnya yang telah membukakan mata betapa indahny ilmu pengetahuan. Orang tua tercinta dan keluarga, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tak ada gading yang tak retak, akan tetapi semoga apa yang telah disusun ini dapat menambah wawasan pengetahuan bagi kita semua.

Semarang, Desember 2005

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Bakteri Termofilik .....	4
2.2 Enzim Termostabil .....	5
2.3 Karakteristik Bakteri .....	6
2.4 Isolasi Bakteri .....	7
2.5 Filogenetik Molekul Mikroorganisme .....	8
2.6 Reaksi Polimerisasi Berantai (PCR) .....	9
2.7 Elektroforesis Gel Agarosa .....	12

2.8 Sekuensing .....	13
2.9 Enzim Ekstraseluler .....	14

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Alat dan Bahan .....	17
3.1.1 Alat-alat yang digunakan .....	17
3.1.2 Bahan-bahan yang digunakan .....	17
3.2 Cara Kerja .....	19
3.2.1 Pengambilan sampel dari sumber air panas .....	19
3.2.2 Inokulasi bakteri .....	19
3.2.3 Penentuan temperatur maksimum .....	20
3.2.4 Isolasi bakteri .....	20
3.2.5 Uji morfologi dan gram bakteri .....	20
3.2.6 Ekstraksi DNA kromosom bakteri .....	21
3.2.7 Amplifikasi <i>in vitro</i> fragmen gen 16S rRNA .....	22
3.2.8 Elektroforesis DNA kromosom bakteri .....	22
3.2.9 Analisis urutan nukleotida fragmen gen 16S rRNA .....	23
3.2.10 Identifikasi amilase ekstraseluler .....	24
3.2.11 Identifikasi protease ekstraseluler .....	24
3.2.12 Identifikasi beta-galaktosidase .....	25

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Kultivasi Bakteri .....	27
4.2 Pengamatan Suhu Maksimum Kehidupan Bakteri .....	28
4.3 Pengamatan Morfologi dan Gram Bakteri .....	28

4.4 Ekstraksi DNA Kromosom Bakteri .....	30
4.5 Elektroforesis DNA Kromosom Bakteri.....	31
4.6 Amplifikasi Fragmen Gen 16S rRNA .....	32
4.7 Sekuensing Fragmen Gen 16S rRNA.....	34
4.8 Analisis Urutan Nukleotida Fragmen Gen 16S rRNA .....	35
4.9 Identifikasi Potensi Protease Ekstraseluler .....	36
4.10 Identifikasi Potensi Beta-Galaktosidase .....	38
4.11 Identifikasi Potensi Amilase Ekstraseluler .....	39
<b>BAB V KESIMPULAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	41
<b>LAMPIRAN</b>	45



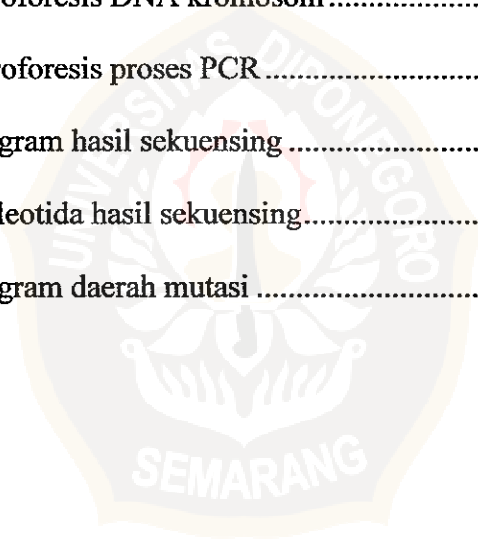
## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Penelitian .....	26
Tabel 4.2. Hasil Identifikasi Potensi Protease Ekstraseluler .....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif.....	7
Gambar 4.1. Perbedaan media yang diinokulasi dan kontrol negatif setelah Inkubasi 24 jam .....	27
Gambar 4.2. Grafik hubungan antara temperatur inkubasi bakteri dengan absorbansi .....	28
Gambar 4.3. Hasil uji morfologi dan pewarnaan gram bakteri pada pengamatan mikroskop dengan perbesaran 400x.....	29
Gambar 4.4. Hasil elektroforesis DNA kromosom .....	32
Gambar 4.5. Hasil elektroforesis proses PCR .....	33
Gambar 4.6. Elektroforegram hasil sekuensing .....	34
Gambar 4.7. Urutan nukleotida hasil sekuensing.....	35
Gambar 4.8. Elektroforegram daerah mutasi .....	36





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A.	Denah Lokasi Sumber Air Panas Gedong Songo .....	45
Lampiran B.	Data Fisik Sumber-Sumber Air Panas Gedong Songo (GS) .....	46
Lampiran C.	Absorbansi Kekeruhan Pertumbuhan Bakteri .....	47
Lampiran D.	Hasil Analisis Urutan Nukleotida Menggunakan Program Primer Select-DNASTAR .....	48
Lampiran E.	Hasil Validasi Urutan Nukleotida Menggunakan Program Seqman-DNASTAR .....	49
Lampiran F.	Hasil Analisis Homologi (BLAST) GenBank .....	50
Lampiran G.	Perbedaan Urutan Nukleotida Sampel dengan <i>Geobacillus lituanicus</i> .....	52
Lampiran H.	Perbedaan Urutan Nukleotida Sampel dengan <i>Geobacillus</i> <i>thermoleovorans</i> Parsial Sekuen .....	53
Lampiran I.	Perbedaan Urutan Nukleotida Sampel dengan <i>Geobacillus</i> <i>thermoleovorans</i> Komplit Sekuen .....	54
Lampiran J.	Elektroforegram Hasil Sekuensing .....	55
Lampiran K.	Preparasi Bahan .....	56

## DAFTAR SINGKATAN

A	adenine
C	cytocine (sitosin)
dATP	deoxy Adenocine Tri Phospat
dCTP	deoxy Cytocine Tri Phospat
dGTP	deoxy Guanocine Tri Phospat
dNTP	deoxy Nucleotide Tri Phospat
ddATP	dideoxy Adenocine Tri Phospat
ddCTP	dideoxy Cytocine Tri Phospat
ddGTP	dideoxy Guanocine Tri Phospat
ddNTP	dideoxy Nucleotide Tri Phospat
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
G	guanin
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> R <sub>d</sub>
<i>HinfI</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> R <sub>f</sub>
kDa	kilo Dalton
mRNA	messenger Ribo Nucleic Acid
pUC8	plasmid dari E. coli dengan ukuran 2,1 kilo basa
rRNA	ribosomal Ribo Nucleic Acid
S (16S)	Svedberg (16 Svedberg), satuan unit massa
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>