

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan I

Judul Tugas Akhir : IDENTIFIKASI FRAGMENT GEN 16S rRNA PADA
BAKTERI TERMOFILIK HASIL ISOLASI DARI
SUMBER AIR PANAS BATURADEN

Nama : MARYA DEWI LINAWATI

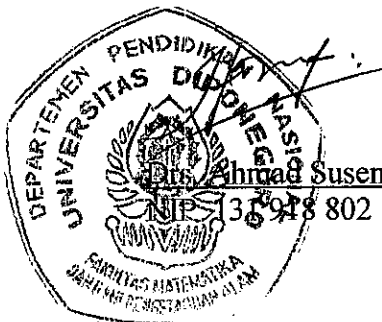
NIM : J2C 001 163

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

Semarang, Desember 2005

Ketua Jurusan Kimia

Ketua Panitia Ujian Sarjana



Dra. Ahmad Suseno, M.Si

NIP. 131 597 639

Dra. Nies Suci Mulyani, MS

NIP 131 597 639

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan II

Judul Tugas Akhir : IDENTIFIKASI FRAGMENT GEN 16S rRNA PADA
BAKTERI TERMOFILIK HASIL ISOLASI DARI
SUMBER AIR PANAS BATURADEN

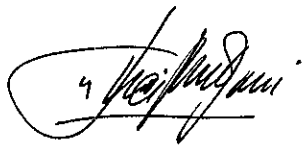
Nama : MARYA DEWI LINAWATI

NIM : J2C 001 163

Telah disetujui dan layak untuk diuji pada ujian sarjana

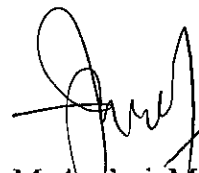
Semarang, Desember 2005

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 penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayah-Nya serta kesehatan yang telah diberikan-Nya sampai sekarang, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini pada waktunya. Penulis berharap skripsi ini dapat menambah wawasan serta ilmu pengetahuan bagi kita semua. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dra. Nies Suci Mulyani, MS selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingannya.
2. M. Asy'ari, M.Si selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingannya.
3. Agustina LNA, M.Si yang telah memberi bantuan dan dorongan semangat.
4. Drs. Ahmaloka atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian di laboratorium kimia ITB.
5. Ayah dan ibu tercinta serta adik-adikku tersayang yang selalu memberikan doa, perhatian, serta dukungan moril dan material selama ini.
6. Teman-teman di laboratorium biokimia, Ida, Helin, Asri, Citra, Diah, Uswah, Henny, Gita, Feri dan Dery, serta "Ankers" atas bantuan dan kerjasamanya.
7. Serta pihak lain yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi sempurnanya tulisan berikutnya.

Semarang, Nopember 2005

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri Termofilik	4
2.2 Mikrobiologi Konvensional	5
2.3 Identifikasi Gen 16S rRNA	7
2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)	8
2.5 Sekuensing	11
2.6 Elektroforesis	12
2.7 Enzim termostabil	13
2.7.1 Protease	13

2.7.2 Amilase	14
2.7.3 β - Galaktosidase	14
2.8 Enzim Ekstraseluler	15
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan	17
3.1.1 Sampel	17
3.1.2 Alat-alat	18
3.1.3 Bahan-bahan	18
3.2 Cara Kerja	
3.2.1 Penyiapan Sampel	20
3.2.2 Inokulasi bakteri	20
3.2.3 Pewarnaan Gram	20
3.2.4 Isolasi DNA dari Bakteri Termofilik	21
3.2.5 Identifikasi DNA Kromosom	
3.2.5.1 Identifikasi DNA kromosom dengan elektroforesis	22
3.2.5.2 Amplifikasi <i>in vitro</i> fragmen 16S rRNA dengan metode PCR	23
3.2.6 Analisis Urutan Nukleotida dengan Sekuensing	23
3.2.7 Identifikasi Enzim Protease Ekstraseluler	24
3.2.8 Identifikasi Enzim Amilase Ekstraseluler	25
3.2.9 Identifikasi Enzim β -galaktosidase Ekstraseluler	25

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Bakteri	26
4.2. Pewarnaan Gram	28
4.3. Identifikasi Enzim Ekstraseluler	29
4.4. Isolasi DNA Kromosom	31
4.5. Identifikasi DNA Kromosom dengan Elektroforesis ...	32
4.6. Amplifikasi <i>In Vitro</i> Fragmen 16S rRNA dengan Metode PCR	33
4.7. Penentuan Urutan Nukleotida dengan Metode Sekuensing	34
4.8. Perbandingan Urutan Nukleotida Hasil Sekuensing dengan <i>Database pada GenBank</i>	36

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38

DAFTAR PUSTAKA	39
-----------------------	-----------

LAMPIRAN	44
-----------------	-----------

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Hasil uji enzim ekstraseluler	29



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Dinding sel bakteri gram positif	6
Gambar 2.2. Dinding sel bakteri gram negatif	7
Gambar 2.3. Reaksi hidrolisis ONPG	15
Gambar 4.1. Pola suhu pertumbuhan bakteri	27
Gambar 4.2. Hasil pewarnaan gram	28
Gambar 4.3. Hasil pemisahan DNA kromosom dengan elektroforesis	33
Gambar 4.4. Hasil amplifikasi fragmen 16S rRNA dengan metode PCR ..	34
Gambar 4.5. Elektroforegram hasil sekuensing fragmen 16S rRNA	35
Gambar 4.6. Urutan nukleotida fragmen 16S rRNA hasil sekuensing	35
Gambar 4.7. Delesi pada posisi basa 1098 fragmen 16S rRNA sampel	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Preparasi larutan	44
Lampiran B. Data fisik sumber air panas Baturaden	46
Lampiran C. Tabel suhu pertumbuhan bakteri dan absorbansinya	47
Lampiran D. Hasil perbandingan urutan nukleotida dengan metode BLAST	48
Lampiran E. Perkiraan panjang basa teramplifikasi pada proses PCR dengan Primer Select	54
Lampiran F. Elektroforegram hasil sekuensing	55



DAFTAR SINGKATAN

A	: adenine
ddH ₂ O	: akuabides
C	: cytosine
DNA	: deoxyribonucleic acid
dNTP	: deoxynucleoside triphosphat
ddNTP	: dideoxynucleoside triphosphat
G	: guanine
<i>Hind</i> III	: <i>Haemophilus influenzae</i> R _d III
<i>Hinf</i> I	: <i>Haemophilus influenzae</i> R _f I
HSPs	: heat shock protein
kb	: kilo basa
ONP	: o-nitrofenol
ONPG	: o-nitrofenil-β-D-Galaktopiranosida
pb	: pasang basa
PCR	: polymerase chain reaction
RNA	: ribonucleic acid (asam ribonukleat)
T	: tymine
16S rRNA	: 16 Svedberg ribosomal RNA