

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan I

Judul Tugas Akhir : IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK ASIDOFIL
DARI ISOLAT KAWAH SIKIDANG DIENG JAWA
TENGAH

Nama : Siti Wakidah

NIM : J2C 001 175

Telah diuji dan dinyatakan lulus pada Ujian Sarjana tanggal 8 Desember 2005



Ketua Panitia Ujian Sarjana



Dra. Nies Suci Mulyani, MS.

NIP. 131 597 639

HALAMAN PENGESAHAN

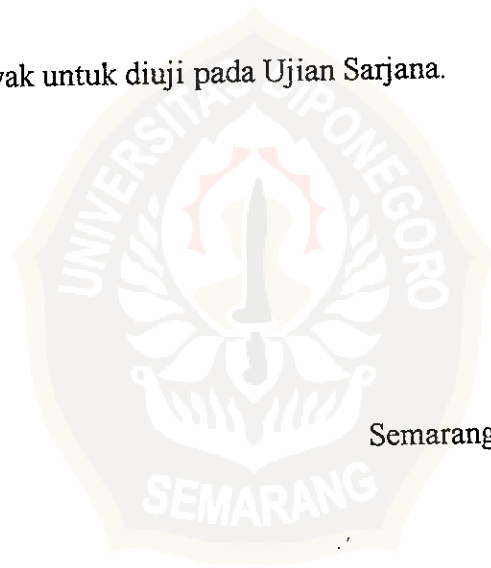
Lembar Pengesahan II

Judul Tugas Akhir : IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK ASIDOFIL
DARI ISOLAT KAWAH SIKIDANG DIENG JAWA
TENGAH

Nama : Siti Wakidah

NIM : J2C 001 175

Telah disetujui dan layak untuk diuji pada Ujian Sarjana.



Semarang, 28 Nopember 2005

Pembimbing I

Dra. Nies Suci Mulyani, M.S.
NIP. 131 597 639

Pembimbing II

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

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Maha Besar Allah yang telah menciptakan alam semesta ini dengan sangat rapi dan sempurna. Tidak ada satupun ciptaan-Nya yang berakhir sia-sia. Apapun yang telah digariskan untuk manusia adalah yang terbaik menurut ilmu-Nya. Dia menciptakan kemudahan dibalik kesusahan. Dia selalu memberikan limpahan anugerah dan kasih sayang tanpa diminta.

“Optimisme yang sesungguhnya adalah menyadari masalah serta mengenali pemecahannya. Mengetahui kesulitan dan yakin bahwa kesulitan itu dapat diatasi. Melihat yang negatif tetapi menekankan yang positif. Menghadapi yang terburuk tetapi mengharapakan yang terbaik. Mempunyai alasan untuk menggerutu tetapi memilih untuk tersenyum” (Zig Ziglar)

Kupersembahkan untuk:

1. Ibu, Bapak dan Dik Yuni yang telah memberikan segalanya dengan penuh cinta.
2. Mas Koid yang selalu memberikan perhatian dan kasih sayang.
3. Sepupu tercintaku Novi, Riski, Rizal dan Rio serta seluruh keluarga di Genuk.
4. Paman terbaikku, Om Har (alm) yang telah membukakan jalan untuk terus maju menjadi yang terbaik.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah yang Maha Kuasa atas limpahan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir hingga penyusunan skripsi. Penulis sampaikan terima kasih kepada Dra. Nies Suci Mulyani, MS., dan M. Asy'ari, MSi., selaku pembimbing yang telah memberikan dukungan moral serta bimbingan selama penelitian, penulisan dan penyusunan skripsi. Ucapan terimakasih juga tertuju kepada:

1. Agustina LNA, MSi, yang selalu memberikan semangat dan ide-ide dalam penelitian ini.
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro beserta seluruh staf pengajar dan teknisi laboratorium kimia.
3. Dr. Akhmaloka, yang memberikan kesempatan kepada penulis untuk magang di Laboratorium Penelitian Asam Nukleat dan Genetika Molekuler, Jurusan Kimia Institut Teknologi Bandung.
4. Ibu, Bapak, Dik Yuni dan Mas atas doa, perhatian, dukungan moral, spiritual dan material selama ini.
5. Helin, Marya, Mas Dery serta teman-teman di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
6. Teman-teman angkatan 2001 Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.

Harapan penulis, dengan tersusunnya laporan ini dapat memberikan manfaat yang lebih besar bagi penulis, pihak jurusan Kimia fakultas MIPA Universitas Diponegoro dan pihak lain yang membutuhkan.

Semarang, Nopember 2005

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Bakteri Termofilik Asidofil.....	4
2.2. Mikrobiologi Konvensional Parsial	5
2.2.1. Pewarnaan Gram	6
2.2.2. Pengamatan Mikroskopis	7
2.3. Enzim Termostabil.....	8
2.3.1. Protease.....	9

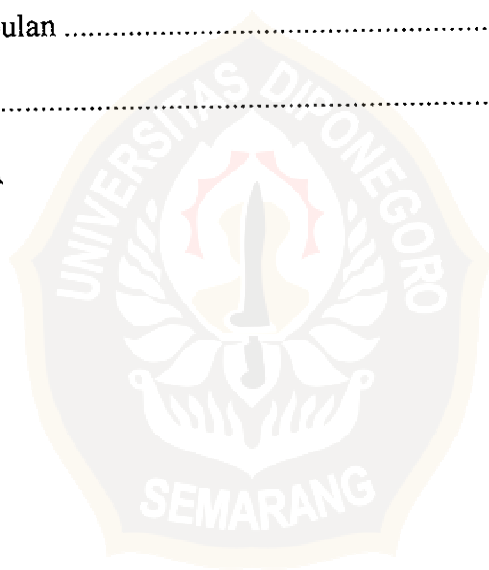
2.3.2. Amilase	9
2.3.3. Beta galaktosidase.....	10
2.4. Gen 16S <i>ribosomal Ribonucleicacid</i> (rRNA)	11
2.5. Amplifikasi secara <i>in vitro</i> dengan <i>Polymerase Chain</i> <i>Reaction</i> (PCR).....	12
2.5.1. Denaturasi	13
2.5.2. Hibridisasi/ <i>annealing</i>	13
2.5.3. <i>Extention</i> (pemanjangan) primer.....	14
2.5.4. Jumlah siklus.....	14
2.6. Identifikasi Spesies Bakteri dengan Analisis <i>Single-Strand</i> <i>Conformational Polymorphism</i> (SSCP).....	15
2.7. Sekuensing dengan Metode Dideoxy-Sanger	16
2.8. Elektroforesis gen DNA.....	17
2.8.1. Gel Poliakrilamida.....	17
2.8.2. Gel Agarosa	18
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Bahan-bahan.....	19
3.3.1. Sampel.....	19
3.3.2. Bahan-bahan yang dibutuhkan	19
3.2. Alat-alat.....	20
3.3. Proses Kerja	21
3.3.1. Penyiapan Sampel.....	21
3.3.2. Penyiapan Media Pertumbuhan.....	21

A. Media Sulfolobus.....	21
B. Media minimal pepton-ekstrak ragi.....	21
3.3.3. Inokulasi Bakteri.....	22
3.3.4. Penentuan Temperatur Optimum Pertumbuhan Bakteri.....	22
3.3.5. Pewarnaan Gram dan Pengamatan secara Mikroskopis.....	22
3.3.6. Identifikasi Enzim Ekstraseluler.....	23
3.3.6.1. Protease.....	23
3.3.6.2. Amilase.....	23
3.3.6.3. Betagalaktosidase.....	23
3.3.7. Isolasi dan Pemurnian DNA.....	24
3.3.8. Amplifikasi secara <i>in vitro</i> gen 16S rRNA dengan PCR.....	25
3.3.9. Analisis dengan Elektroforesis Gel Agarosa.....	25
3.3.10. SSCP.....	26
3.3.11. Sekuensing.....	27
3.3.12. Analisis Hasil Sekuensing.....	28
3.3.13. Parameter yang diamati.....	28

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Perbanyak Sel Bakteri.....	29
4.2. Pengamatan Temperatur Optimum Pertumbuhan Bakteri.....	31
4.3. Pewarnaan Gram.....	32

4.4. Identifikasi Enzim Ekstraseluler	33
4.5. Analisis Biologi Molekul	35
4.5.1. Ekstraksi DNA kromosom	35
4.5.2. Amplifikasi DNA secara <i>in vitro</i> dengan PCR.....	37
4.5.3. Pemisahan spesies bakteri dengan SSCP	38
4.5.4. Penentuan urutan nukleotida fragmen gen 16S rRNA dengan metode sekuensing Dideoxy-Sanger.....	40
4.5.5. Analisis urutan nukleotida dengan <i>database GenBank</i>	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	51



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Komponen penyusun dinding sel bakteri.....	7
Gambar 2.2. Reaksi hidrolisis ONPG menghasilkan senyawa bewarna ONP	11
Gambar 2.3. Struktur 2'3'dideoxynucleoside triphosphates.....	17
Gambar 4.1. Absorbansi bakteri pada berbagai variasi temperatur inkubasi	31
Gambar 4.2. Hasil uji mikroskopis isolat Dieng dengan perbesaran 1000X	32
Gambar 4.3. Hasil elektroforesis DNA kromosom dengan marker DNA λ /HindIII.....	37
Gambar 4.4. Profil elektroforesis hasil amplifikasi fragmen gen 16S rRNA dengan marker pUC/Hinfl.....	38
Gambar 4.5. Profil SSCP sampel AD3 dan BD3.....	39
Gambar 4.6. Elektroforegram hasil sekuensing sampel AD3.....	41
Gambar 4.7. Urutan data sekuensing hasil validasi.....	41
Gambar 4.8. Data <i>alignment</i> urutan nukleotida sampel AD3.....	42
Gambar 4.9. Letak substitusi sampel pada elektroforegram.....	43

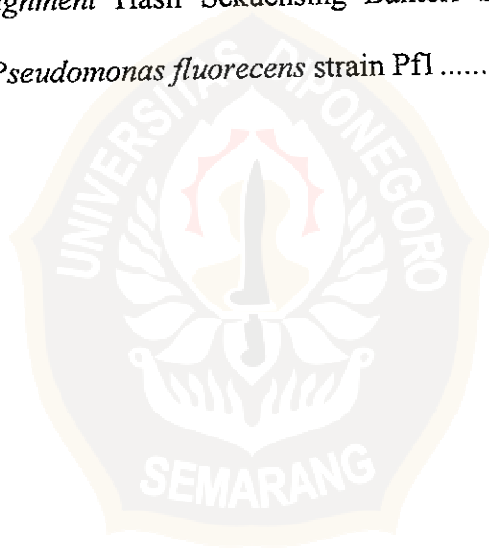
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Hasil Identifikasi Enzim Ekstraseluler	33



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Data Fisik dan Peta Lokasi Kawah Sikidang Dieng.....	52
Lampiran B. Preparasi Larutan	53
Lampiran C. Data Absorbansi Bakteri Pada Berbagai Variasi Temperatur	55
Lampiran D. Data Simulasi Primer dengan Program Primer Select- DNA STAR.....	56
Lampiran E. Elektroforegram dan Urutan Nukleotida Hasil Sekuensing...	57
Lampiran F. Data BLAST Hasil Sekuensing dengan <i>data base GenBank</i> .	58
Lampiran G. Data <i>Alignment</i> Hasil Sekuensing Bakteri Sampel AD3 dengan <i>Pseudomonas fluorescens</i> strain Pfl	62



DAFTAR SINGKATAN

A	adenine (adenin)
APS	amonium persulfat
C	cytosine (sitosin)
DNA	deoxyribonucleic acid
dNTP	deoxynucleoside triphosphat
ddNTP	dideoxynucleoside triphosphat
EDTA	etilen diamine tetraacetic acid
EtBr	ethibium bromida
G	guanine (guanin)
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> galur d urutan III
<i>HinfI</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> galur d urutan I
kb	kilo basa
pb	pasang basa
PCR	polymerase chain reaction
pUC	plasmid University California
rRNA	ribosomal ribonucleic acid
SDS	sodiumdodecylsulphat
SSCP	single-strand conformational polymorphism
T	tymine (timin)
TAE	trisasetat EDTA
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	tris borat EDTA
TEMED	tetrametiletildiamin
16S rRNA	16 Sviedberg ribosomal ribonucleic acid