



**DIVERSITAS ISOLAT BAKTERI
ASAL PERAIRAN PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN *BOX-PCR* dan *BIOLOG GN2 MICROPLATE***

SKRIPSI

Oleh:

**Herawati
051810401099**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA dan ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2010**



**DIVERSITAS ISOLAT BAKTERI
ASAL PERAIRAN PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN *BOX-PCR* dan *BIOLOG GN2 MICROPLATE***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

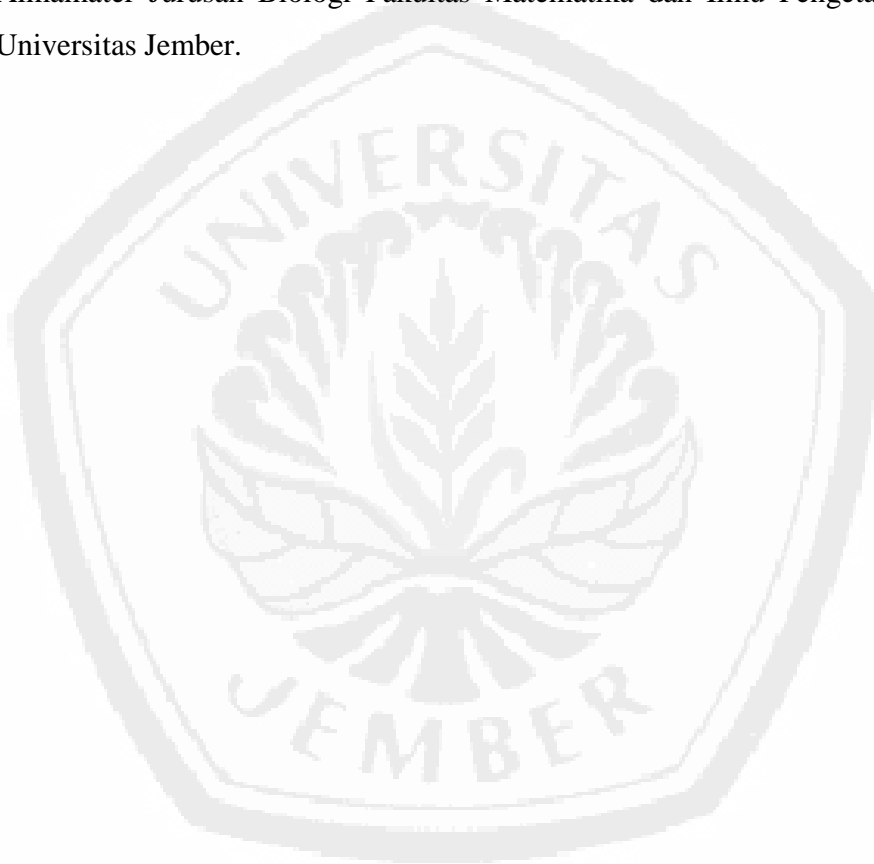
Oleh
Herawati
051810401099

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA dan ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

1. Ayahanda Haposan Hutabarat dan Ibunda Sintauli br. Hutasoit tercinta, yang telah mendoakan dan memberi kasih sayang serta pengorbanan selama ini.
2. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



MOTTO

Orang yang ingin bergembira harus menyukai kelelahan akibat bekerja



***) Nasrul Kurniawan dalam <http://andonesy.staff.uns.ac.id/2008/10/31/kata-kata-bijak/>

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Herawati

NIM : 051810401099

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Diversitas Isolat Bakteri Asal Perairan Pantai Bandalit Jember Berdasarkan *BOX-PCR* dan *BIOLOG GN2 Microplate*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan dan bukan karya jiplakan. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian berjudul “ *Studi Molekuler Diversitas dan Aktivitas Bakteri dari Perairan Pantai Watu Ulo Jember: Upaya Pemanfaatan Potensinya untuk Mengatasi Permasalahan Lingkungan*” dan dibiayai program Hibah Strategis Nasional Batch I 2009 DIKTI, DIPA Universitas Jember. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Juni 2010

Yang Menyatakan,

Herawati

NIM 051810401099

SKRIPSI

**DIVERSITAS ISOLAT BAKTERI
ASAL PERAIRAN PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN *BOX-PCR* dan *BIOLOG GN2 MICROPLATE***

Oleh
Herawati
NIM 051810401099

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr.rer.nat. Kartika Senjarini S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota: Sattya Arimurti S.P., M.Si

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Diversitas Isolat Bakteri Asal Perairan Pantai Bandalit Jember Berdasarkan *BOX-PCR* dan *BIOLOG GN2 Microplate*” telah diuji dan disahkan pada

Hari, tanggal :

Tempat : Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji:

Ketua (DPU)

Sekretaris (DPA)

Dr.rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si
NIP 19750913 200003 2 001

Sattya Arimurti, S.P., M.Si
NIP 19740331 199903 2 001

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc
NIP 19551022 198212 1 001

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP 19600816 198902 1 001

Mengesahkan,
Dekan FMIPA

Prof. Drs. Kusno, DEA., PhD
NIP 19610108 198602 1 001

RINGKASAN

Diversitas isolat Bakteri Asal Perairan Pantai Bandealit Jember Berdasarkan BOX-PCR dan BIOLOG GN2 Microplate; Herawati; 051810401099; 2010; 33 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Perairan merupakan tempat hidup berbagai macam organisme yang di dalamnya terjadi interaksi antara organisme tersebut dengan lingkungannya. Perairan juga merupakan tempat pembuangan limbah terakhir yang berasal dari limbah rumah tangga maupun limbah pertanian, dengan komposisi utama limbah tersebut merupakan materi organik. Bakteri merupakan mikroorganisme yang memegang peranan kunci dalam proses bioremediasi perairan melalui aktivitas dekomposisi. Aktivitas dekomposisi tersebut sangat berkaitan dengan jenis bakteri yang menyusun komunitas perairan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari diversitas berbasis molekuler serta potensi aktivitas hidrolitik terhadap substrat organik (*metabolic fingerprint*) isolat-isolat bakteri pilihan dari perairan pantai Bandealit Jember.

Metode penelitian meliputi isolasi bakteri dari sampel air perairan pantai Bandealit Jember. 10 isolat bakteri terpilih dikarakterisasi berdasarkan profil genetik berdasarkan *BOX-PCR* dengan menggunakan primer *BOX-AIR* (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'). 5 isolat dipilih untuk diuji aktivitas hidrolitiknya berdasarkan hasil *Metabolic Fingerprint* pada *BIOLOG GN2 Microplate*. Sebanyak 120 isolat telah berhasil diisolasi dan 60 diantaranya telah dimurnikan dengan cara membuat koloni tunggal.

Sebanyak 10 isolat bakteri telah berhasil dikarakterisasi morfologi sel dan koloninya serta profil genetiknya berdasarkan *BOX-PCR* menggunakan primer *BOX-AIR*. Ke-10 isolat bakteri tersebut memiliki profil genetik yang berbeda, hal ini mengindikasikan bahwa spesiesnya berbeda dan adanya diversitas bakteri berdasarkan profil genetiknya. 5 diantaranya dipilih untuk diuji aktivitas hidrolitiknya dalam merespirasi substrat organik pada *BIOLOG GN2 Microplate* yaitu isolat bakteri BA 011109 dominan menggunakan dimer karbohidrat, BA 041109 mampu menggunakan karbohidrat, protein, dan lemak. Isolat BA 061109 dominan

menggunakan karbohidrat, BA 091109 hanya mampu menggunakan substrat α -D-Glucose, sukrosa, dextrin dan D-alanin, dan pada BA 041109* mampu memanfaatkan substrat lebih banyak yaitu mencakup karbohidrat, protein, dan lemak/ester dan alkohol. Hasil penelitian ini menemukan isolat bakteri yang memiliki morfologi sel yang sama dapat berbeda profil genetiknya. Perbedaan profil genetik isolat bakteri tersebut ternyata berbeda juga dalam hal pemanfaatan substrat organik. 3 isolat yang telah diuji mengindikasikan adanya potensi aktivitas selulolitik karena kemampuannya dalam memanfaatkan D-cellobiose yang merupakan dimer dari β -glukosida. Hal ini mengindikasikan kemampuan isolat bakteri tersebut dalam menghasilkan enzim selulase yang dapat memecah selulosa yang merupakan komponen utama limbah pertanian, sehingga berpotensi sebagai agen bioremediasi perairan. Isolat bakteri yang memiliki morfologi sel yang sama ternyata memiliki profil genetik yang berbeda, akan tetapi memiliki beberapa kesamaan dan/atau perbedaan dalam memanfaatkan substrat organik dalam "*metabolic fingerprint*".

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi, yang berjudul : ” *Diversitas Isolat Bakteri Asal Perairan Pantai Bandealit Berdasarkan BOX-PCR dan BIOLOG GN2 Microplate*”.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains, pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulis menyadari, bahwa dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga di dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr.rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah dengan sabar dan senang hati meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan serta petunjuk dan motivasi sehingga selesainya skripsi ini,
2. Ibu Sattya Arimurti, S.P., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah dengan sabar banyak memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini,
3. Bapak Prof. Dr. Bambang Sugiharto, MAgr.Sc., selaku Penguji I yang telah memberikan bimbingan dalam ujian skripsi guna kesempurnaan skripsi ini,
4. Bapak Drs. Rudju Winarsa, M.Kes., selaku Penguji II yang telah memberikan bimbingan dalam ujian skripsi guna kesempurnaan skripsi ini,
5. Ibu Dra.Umiyah M.Sc, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam masa perkuliahan sampai dengan penyelesaian penyusunan skripsi ini,
6. pemberi dana penelitian DIKTI DIPA Universitas Jember (DP2M) melalui program Stranas Batch I yang telah mendanai penelitian ini sampai dengan penyelesain skripsi ini,

7. saudara-saudaraku, Abang Jan Hutabarat, Abang Bakti Hutabarat, Kakak Lilis br. Hutabarat, Abang Fernando Hutabarat, dan Monalisa br. Hutabarat atas pengertian, kasih sayang, dan dukungannya selama ini,
8. Ibu Damaris br. Siagian yang telah mendukung dan memberi semangat selama masa perkuliahan dan penulisan skripsi ini,
9. teman-teman satu tim penelitian Nurul Huda, Dina Fitriyah, Ratno, Pulong, Riska, Akta, dan Ali atas segala kerjasama dan bantuan semasa penelitian hingga penulisan skripsi ini,
10. Ibu Ir.Endang dan Mbak Arin yang telah membantu selama masa penelitian,
11. Genhard Manurung yang telah mendukung selama masa perkuliahan dan penulisan skripsi ini,
12. teman-teman tempat berbagi suka dan duka Nawal, May, Tike, Rini, Marlina, Lisa, Adi, Nelva, dan Bang Nugraha atas semangat dan doanya selama ini,
13. keluarga besar NHKBP Jember, HORAS F.C, dan UKMK SUK yang telah memberikan semangat persaudaraan selama ini,
14. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga amal kebaikan dan bantuannya mendapatkan balasan dari Tuhan Yang Maha Kuasa.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Jember, Juni 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah	3
1.3 Rumusan Masalah	3
1.4 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biomassa Bakteri dalam Ekosistem Perairan	4
2.2 Proses Dekomposisi di Ekosistem Perairan	5
2.3 Diversitas Fungsional Bakteri	7
BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Bahan dan Alat	11
3.3 Prosedur Penelitian	11

3.3.1 Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri	11
3.3.2 Penyimpanan Isolat Bakteri (<i>Cryoconserved</i>)	12
3.3.3 Pengamatan Morfologi Koloni dan Isolat Bakteri	12
3.3.4 Penentuan Diversitas Isolat Bakteri Menggunakan <i>BOX-PCR</i>	13
3.3.5 Penentuan aktivitas bakteri (<i>substrate uptake</i>) berdasarkan hasil <i>metabolic fingerprint</i> pada <i>Carbon sources turnover</i> (<i>BIOLOG</i> <i>GN2 Microplate</i>)	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
1.1 Isolasi dan Karakteristik Umum Isolat Bakteri	16
1.2 Keanekaragaman Isolat Bakteri Berdasarkan Profil Genetik (<i>BOX-PCR</i>)	16
1.3 Keanekaragaman Isolat Bakteri Berdasarkan <i>Metabolic</i> <i>fingerprint</i> (<i>BIOLOG GN2 Microplate</i>)	18
BAB 5. PENUTUP	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

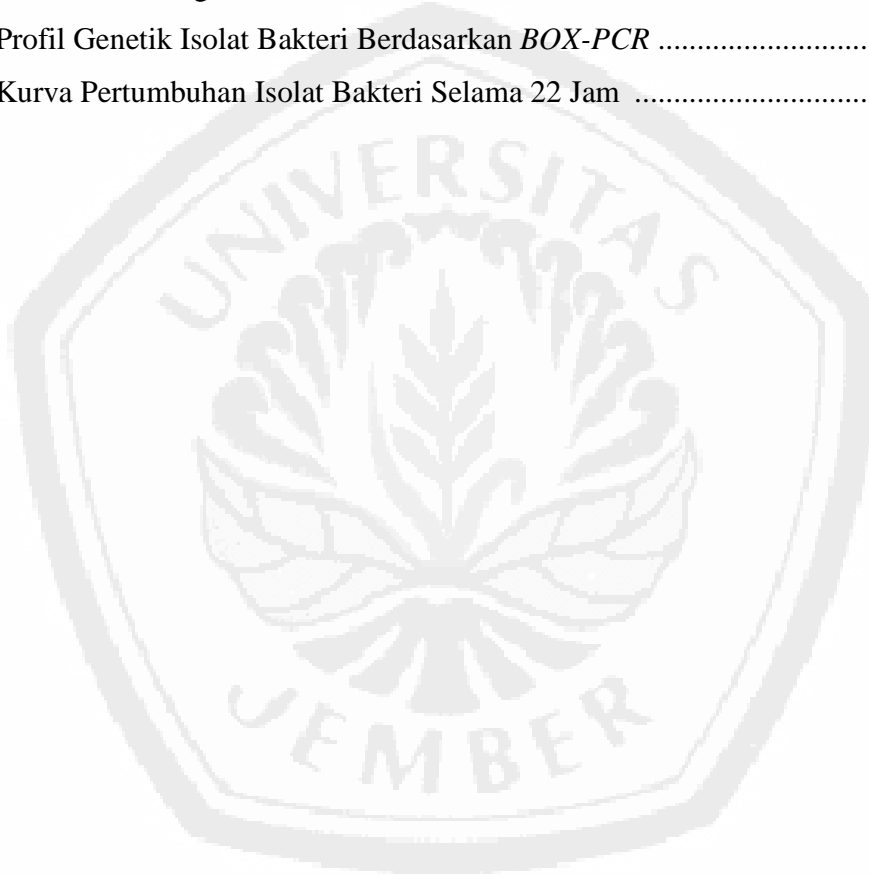
DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Data Morfologi Isolat Bakteri Umur 3 Hari dari Perairan Pantai Bandalit Jember	17
4.2 Uji Metabolisme Isolat Bakteri Berdasarkan <i>BIOLOG GN2 Microplate</i> ..	26



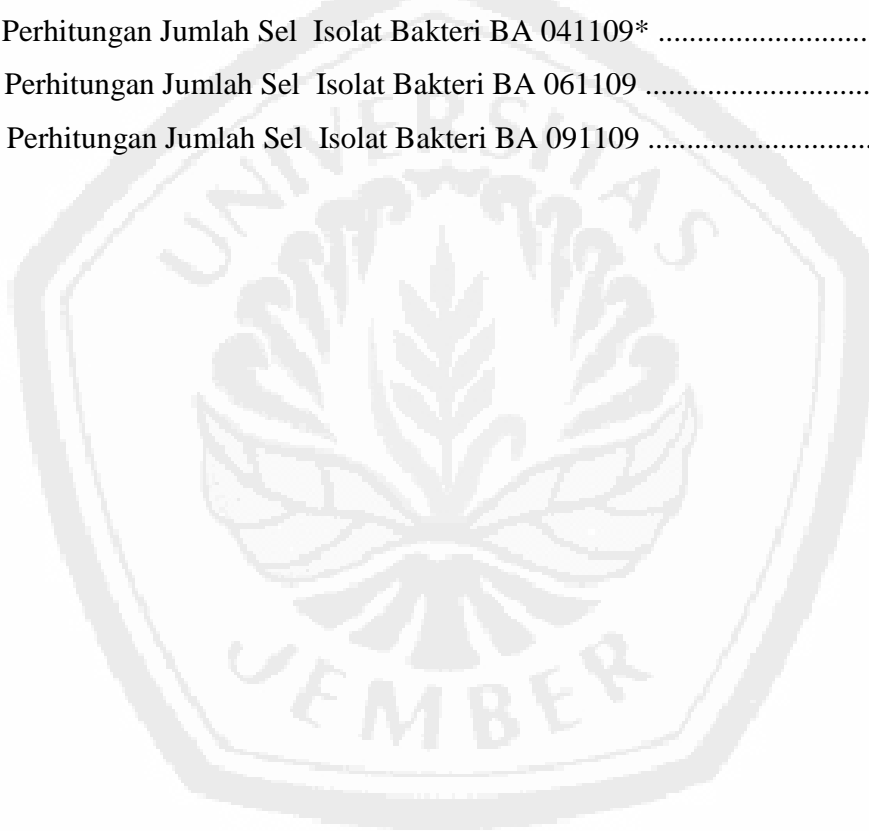
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Daur Biogeokimia di Alam	5
Mekanisme <i>BOX-PCR</i>	9
4.1 Ekstraksi DNA genom Isolat Bakteri	18
4.2 Profil Genetik Isolat Bakteri Berdasarkan <i>BOX-PCR</i>	20
4.3 Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Selama 22 Jam	22




DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
I. Komposisi Media dan Larutan	34
II. Morfologi Koloni Isolat Bakteri	35
III. Perhitungan Jumlah Sel Isolat Bakteri BA 011109	37
IV. Perhitungan Jumlah Sel Isolat Bakteri BA 041109	38
V. Perhitungan Jumlah Sel Isolat Bakteri BA 041109*	39
VI. Perhitungan Jumlah Sel Isolat Bakteri BA 061109	40
VII. Perhitungan Jumlah Sel Isolat Bakteri BA 091109	41



DAFTAR SINGKATAN



RAPD	: <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
RFLP	: <i>Restricted Fragment Length Polymorphism</i>
DGGE	: <i>Degradative Gradien Gel Electrophoresis</i>
MFLP	: <i>Macrorestricted Fragment Length Polymorphism</i>
REP	: <i>Repetitive Extragenic Palindromic</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
ERIC	: <i>Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus</i>
GN	: <i>Gram Negative</i>
ATP	: <i>Adenosin Tri Phosfat</i>
DOM	: <i>Dissolved Organic Matter</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
POM	: <i>Particulate Organic Matter</i>
CO ₂	: <i>Carbondioxycide</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer Saline</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
EtBr	: <i>Ethidium Bromide</i>