



**IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI DARI PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN SEKUEN DNA PENGKODE 16S rRNA**

SKRIPSI

Oleh

**Dina Fitriyah
NIM 061810401071**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2011**



**IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI DARI PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN SEKUEN DNA PENGKODE 16S rRNA**

SKRIPSI

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

oleh

Dina Fitriyah
NIM 061810401071

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2011

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua tercinta, yang telah memberikan kasih sayang, pengorbanan, dan doa yang tiada henti-hentinya;
2. semua keluarga yang telah mendukung dan memberi motivasi dalam menempuh pendidikan;
3. semua guru-guru yang telah mendidik dan mengajarku, terima kasih yang tak terhingga atas ilmu yang Engkau berikan;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

“Barang siapa yang keluar rumah untuk belajar satu bab dari ilmu pengetahuan, maka ia telah berjalan fisabilillah sampai ia kembali kerumahnya”

(HR. Tirmidzi dari Anas RA)

“Tak wajarlah bagi orang bodoh, berdiam diri atas kebodohnya. Dan tak wajarlah bagi orang yang berilmu, berdiam diri atas ilmunya”

(HR. At-Thabrani dan Abu Na'im)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Dina Fitriyah

NIM : 061810401071

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "*Identifikasi Isolat Bakteri dari Pantai Bandalit Jember Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta 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 Masalah Permasalahan Lingkungan*" dan dibiayai program Hibah Strategis Nasional Batch I 2009 DIKTI, DIPA Universitas Jember atas nama Dr.rer.nat.Kartika Senjarini. 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 23 Mei 2011

Yang menyatakan,

Dina Fitriyah

NIM. 061810401071

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI DARI PANTAI BANDEALIT JEMBER
BERDASARKAN SEKUEN DNA PENGKODE 16S rRNA**

Oleh

**Dina Fitriyah
NIM 061810401071**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr.rer.nat. Kartika Senjarini S.Si., M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Sattya Arimurti, S.P., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Identifikasi Isolat Bakteri dari Pantai Bandalit Jember Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr.rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si
NIP 197509132000032001

Sattya Arimurti, S.P., M.Si
NIP 197403311999032001

Anggota I,

Anggota II,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc
NIP 195510221982121001

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si
NIP 196805031994011001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Identifikasi Isolat Bakteri dari Pantai Bandealit Jember Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA; Dina Fitriyah, 061810401071; 2011: 38 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang paling dominan di lingkungan perairan. Diversitas bakteri sangat berpengaruh dalam melaksanakan fungsi dekomposisinya, hal ini karena tinggi rendahnya aktivitas dekomposisi tergantung pada jenis komunitas bakteri yang menyusun struktur ekosistem perairan tersebut. Oleh karena itu mempelajari diversitas bakteri merupakan tahap penting untuk mempelajari peranannya sebagai dekomposer di ekosistem perairan. Sebanyak 20 isolat bakteri asal perairan pantai Bandealit Jember telah diisolasi dan 5 isolat diantaranya dikarakterisasi morfologi, profil metabolik dan profil genetiknya. Lima isolat bakteri tersebut yaitu BA011109, BA041109, BA041109*, BA061109, dan BA091109 yang diindikasikan memiliki aktifitas hidrolitik. Sebagai langkah lanjutan dalam studi diversitas bakteri adalah menentukan jenis bakteri yang menyusun struktur komunitas dalam ekosistem tersebut melalui identifikasi. Identifikasi dapat dilakukan secara molekuler berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA. Gen ini memiliki panjang basa sekitar 1500 bp yang memudahkan menganalisis dalam menentukan hubungan filogenetik serta memiliki daerah-daerah yang bersifat konservatif dan variatif sehingga dapat digunakan untuk membedakan organisme dalam genus bahkan spesies. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi isolat bakteri dari pantai Bandealit Jember berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA serta untuk mengetahui hubungan filogenetiknya.

Metode penelitian meliputi (1) isolasi DNA genom dilakukan dengan metode *freeze and thaw*. (2) Kemurnian dan stabilitas profil genom isolat dapat ditentukan dengan *BOX PCR*. (3) Identifikasi dilakukan dengan mensekuensing DNA hasil

purifikasi produk PCR 16S rRNA. (4) *Alignment* sekuen DNA Pengkode 16S rRNA dari masing-masing isolat dibandingkan dengan database gen 16S rRNA menggunakan BLAST.

DNA genom berhasil diisolasi yaitu adanya satu pita DNA diatas 10.000 bp DNA marker yang selanjutnya digunakan sebagai *template* dalam proses PCR. *BOX PCR* menunjukkan bahwa hanya isolat bakteri BA011109 yang memiliki profil pita DNA yang sama dengan profil pita DNA BA011109 hasil pengujian Herawati (2010). Hal ini menunjukkan kestabilan profil genetik yang mengindikasikan kemurnian isolat tersebut. Isolat BA011109 selanjutnya akan diidentifikasi dengan mengamplifikasi DNA pengkode 16S rRNA. Proses PCR DNA pengkode 16S rRNA dengan menggunakan 2 pasang primer adalah untuk mendapatkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA secara utuh. Identifikasi DNA pengkode 16S rRNA ditentukan dengan urutan nukleotidanya melalui proses sekuensing. Proses sekuensing dilakukan dengan primer 27F, 907R, 533F, dan 1492R yang menghasilkan pembacaan antara 800-950 basa nukleotida untuk masing-masing primer.

Berdasarkan hasil analisis sekuen dengan menggunakan program BLAST pada sekuen utuh hasil editing produk sekuensing DNA pengkode 16S rRNA, isolat bakteri BA011109 memiliki kedekatan dengan *Microbacterium esteraromaticum* yaitu dengan persentase kemiripan 99% (1424/1426). Isolat bakteri BA011109 yang diisolasi dari perairan pantai Bandalit Jember menunjukkan kesamaan morfologi koloni yaitu memiliki koloni berwarna kuning serta menunjukkan kesamaan fisiologi yaitu dapat menghidrolisis polimer karbohidrat. Sehingga diduga isolat tersebut merupakan bakteri *M. esteraromaticum*.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul: ”*Identifikasi Isolat Bakteri dari Pantai Bandealit Jember Berdasarkan Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada :

1. Dr. rer. nat. Kartika senjarini, S.Si., M.Si., dan Sattya Arimurti, S.P., M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dalam penulisan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc, dan Dr. Kahar Muzakhar, S.Si selaku Dosen Penguji, yang telah banyak memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Dra. Susantin Fajariyah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam masa perkuliahan sampai dengan penyelesaian penyusunan skripsi ini;
4. Bapak dan Ibu Dosen, serta seluruh staf di lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, atas segala keikhlasan hati membantu penulis selama dalam masa perkuliahan;
5. Kedua orang tua tercinta, Adik Moh. Rosyadi Adnan, dan seluruh keluarga tercinta yang telah memberikan kasih sayang, semangat serta doa yang tiada henti-hentinya;
6. rekan kerja dan teman-teman seperjuangan Moh. Ubaidillah, Nurul Huda, Herawati, Ratno, Anja, Endah, Faiz, Lusi, Herlina, Dewi Riska, Esti, teman-teman FK, teman-teman Mikrobiologi serta teman-teman Sugar Group, terima kasih atas kerjasama, dukungan serta bantuan yang diberikan selama penelitian;

7. teman-teman angkatan 2006 serta teman-teman KALTISEM, terima kasih atas kebersamaan, persaudaraan, dan tempat berbagi suka dan duka;
8. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga do'a, bimbingan dan semangat yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah SWT. Penulis sangat mengharapkan segala masukan yang bersifat kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Mei 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Teknik PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) Sebagai Dasar Identifikasi Secara Molekuler	4
2.2 Penentuan Urutan Basa Nukleotida (Sekuensing)	7
2.3 Identifikasi Bakteri Berdasarkan 16S rRNA	9
2.4 16S rRNA Sebagai Basis Untuk Menentukan Filogeni.....	12

BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.2.1 Alat.....	15
3.2.2 Bahan	15
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Isolasi DNA Genom.....	16
3.3.2 <i>BOX PCR</i> Untuk Menjaga Kemurnian dan Stabilitas Profil Genom Isolat	16
3.3.3 PCR DNA Pengkode 16S rRNA	17
3.3.4 Purifikasi DNA Hasil PCR	18
3.3.5 Analisis Sekuen DNA Pengkode 16S rRNA	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Kemurnian dan Stabilitas Profil Genom Isolat Bakteri Berdasarkan <i>BOX PCR</i>	22
4.2 Amplifikasi DNA Pengkode 16S rRNA	23
4.3 Analisis Urutan Nukleotida DNA Pengkode 16S rRNA Isolat Bakteri BA011109	27
BAB 5. PENUTUP	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Beberapa Organisme yang Memiliki Kemiripan Terdekat dengan Isolat Bakteri BA011109 Berdasarkan Urutan Nukleotida DNA Pengkode 16S rRNANYA	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tahapan Proses PCR.....	6
2.2 Prinsip Metode Sekuensing Sanger dengan Teknik <i>Dye Terminator</i> (Pelabelan ddNTP).....	9
2.3 Peta Variabilitas Sekuen Gen 16S rRNA Bakteri, Daerah Penempelan Primer, dan Daerah Variabel	12
2.4 Pohon Filogenetik yang Menunjukkan Tiga Domain Kehidupan	13
4.1 Isolasi DNA Genom Isolat Bakteri Asal Perairan Pantai Bandealit Jember	21
4.2 Konfirmasi Profil Genom Isolat Bakteri Terpilih Dari Pantai Bandealit Jember Berdasarkan <i>BOX PCR</i>	23
4.3 Posisi Kedua Pasang Primer dalam Proses Amplifikasi untuk Memperoleh Sekuen Utuh DNA Pengkode 16S rRNA	24
4.4 Hasil Elektroforesis Gel Agarose dari Amplifikasi DNA Pengkode 16S rRNA Isolat BA011109.....	25
4.5 Hasil Pemurnian Produk PCR DNA Pengkode 16S rRNA Isolat BA011109 Melalui Elektroforesis Gel Agarosa.....	26
4.6 Teknik Pairwise Sequence Alignment untuk Tujuan Homologi Sekuen	27
4.7 Penyejajaran Urutan Nukleotida Isolat Bakteri BA011109 dengan <i>Microbacterium esteraromaticum</i> strain S29.....	29
4.8 Pohon Filogeni yang Menunjukkan Hubungan Kedekatan Isolat BA011109 dengan Bakteri yang Terdapat di <i>Gene Bank</i>	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media dan Larutan.....	39
B. Sekuen Utuh DNA Pengkode 16S rRNA Isolat Bakteri BA011109 Editing Hasil Sekuensing dengan Primer 27F, 907R, 533F dan 1492R	40