AMPLIFIKASI ISOLAT BAKTERI SF1 SIMBION SPONS Facaplysynopsis sp. DARI PERAIRAN TONGKEINA, SULAWESI UTARA

by Elvy Like Ginting 3

Submission date: 01-Mar-2021 03:37PM (UTC-0800)
Submission ID: 1521735412
File name: Facaplysynopsis_sp._DARI_PERAIRAN_TONGKEINA,_SULAWESI_UTARA.pdf (557.52K)
Word count: 1767
Character count: 10713

AMPLIFIKASI ISOLAT BAKTERI SF1 SIMBION SPONS *Facaplysynopsis sp.* DARI PERAIRAN TONGKEINA, SULAWESI UTARA

(Amplification Of Bacterial Isolate Sf1 Associated With Sponge Facaplysynopsis sp. From Tongkeina, North Sulawesi)

Liviani Rangian[1*], Elvy Like Ginting[1], Stenly Wullur[1], Erly Kaligis[1], Sandra Tilaar[1], Reiny Tumbol[2]

[1]Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
e-mail :*liviaaesther@yahoo.com*

[2] Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado

ABSTRACT

This study was conducted with the aim of amplifying the isolate of SF1 symbiont sponge *Facaplysynopsis sp.* from Tongkeina, North Sulawesi. Samples are obtained and stored in the Lab. Molecular Biology and Marine Pharmacology, FPIK Unsrat. The genomic DNA of the samples was isolated using protocols from the Innu PREP Mini DNA Kit. The DNA of the SF1 symbionary bacteria was amplified by PCR (Polymerase Chain Reaction) using an 8F primer (5'-AGAGTITGATCCTGGCTA-3 ') and 1492 R (5'TACCTTACGACTT-3'). DNA bacteria SF1 successfully amplified marked by the appearance of the band of DNA that looks less clear, with a length of 600 bp.

***Keywords**: Bacterial Isolate, Sponge, Amplification*

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengamplifikasi isolat bakteri SF1 simbion spons *Facaplysynopsis sp* dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. Sampel diperoleh dan tersimpan di Lab. Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut, FPIK Unsrat. DNA genom dari sampel diisolasi menggunakan protokol dari Innu PREP DNA Mini Kit. DNA bakteri simbion SF1 diamplifikasi dengan PCR (Polymerase Chain Reaction) dengan menggunakan primer *8F (5'-AGAGTITGATCCTGGCTA-3')* dan *1492 R (5'TACCTTACGACTT-3')*. DNA bakteri SF1 berhasil diamplifikasi ditandai dengan munculnya pita DNA yang terlihat kurang jelas, dengan panjang 600 bp.

***Kata Kunci**: Bakteri Simbion, Spons, Amplifikasi*

PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dewasa ini telah merebak ke berbagai cabang ilmu, termasuk ilmu biologi molekuler. Ilmu biologi molekuler dapat diaplikasikan dalam berbagai penelitian, diantaranya penelitian dengan menggunakan metode identifikasi yang berhubungan dengan DNA. Metode identifikasi bakteri secara molekuler berhubungan dengan DNA, karena metode ini dianggap lebih tepat dan cepat juga dapat menghasilkan hasil yang sempurna (Tindi *dkk*, 2016).

DNA Barcoding adalah sebuah metode identifikasi spesies secara cepat dengan menggunakan urutan pendek DNA sebagai alat pengidentifikasiannya

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

(Hebert *et al*., 2003). Teknik identifikasi molekuler menggunakan teknik PCR *(Polymerase Chain Reaction),* yang dapat digunakan salah satunya pada bakteri yang bersimbion dengan spons.

Spons adalah invertebrata laut yang merupakan salah satu sumber potensial penghasil komponen bioaktif dan merupakan tempat hidup organisme yang bersimbiosis dengannya. Bakteri simbion adalah bakteri yang hidup menetap pada suatu inang, dan biasanya menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti inangnya (Lee *et al*., 2011).

Bakteri yang bersimbosis dengan spons mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang tidak hanya memberikan informasi mengenai keragaman bakteri dalam struktur komunitas mikroba, akan tetapi juga dapat memberikan suatu tahapan dari solusi masalah penyedaan senyawa-senyawa bioaktif (Ginting *dkk*. 2010). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamplifikasi DNA bakteri simbion dengan spons dari Perairan Tongkeina, guna untuk pengembangan penelitian lebih lanjut secara analisis molekuler.

. METODE PENELITIAN

Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sampel yang tersedia di Lab. Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut, FPIK Unsrat. Isolat bakteri simbion dengan spons telah berhasil dikultur dan diisolasi dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara (Wantania *dkk,* 2016). DNA bakteri simbion Spons *Facaplisynopsis sp. (SF1)* (Gambar 1), tersedia dalam bentuk agar miring yang ditumbukan kembali dalam media nutrient broth dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

Gambar. 1 Spons *Facaplisynopsis* sp. (SF1). (Wantania *dkk*, 2016)

Ekstraksi DNA

Pada serangkaian prosedur ini, DNA bakteri simbion SF1 diisolasi melalui proses pemisahan secara mekanik dan kimiawi. Proses ini terjadi mulai dari lisis sel, pemisahan protein, garam dan komponen penyusun sel lainnya, dan terakhir, proses elusi/pengumpulan DNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan protokol dari Kit Innu PREP DNA Mini Kit. Tahapan proses ekstraksi DNA berpedoman pada prosedur pabrikan *www.qiagen.com.* Sampel dimasukan ke dalam 1,5 ml microcentrifuge tube dengan menambahkan 180 µl Buffer ATL, 20 µl proteinase K, vortex selama 15 detik dan inkubasi sampel pada 55°C selama 3 jam.

Selanjutnya, tambahkan 200 µl Buffer AL pada sampel, vortex kembali selama 15 detik dan inkubasi pada 70 °C selama 10 menit. 200 µl etanol (96-

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

100%) ditambahkan pada sampel dan di vortex kembali selama 15 detik. Pindahkan larutan pada DNeasy Mini Spin Column yang berada di atas 2 ml collection tube, sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 1 menit.

Setelah itu buang cairan yang berada di bagian bawah dan tambahkan 500 µl Buffer AW1 dan sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Setelah itu buang cairan yang berada di bagian bawah. Tambahkan 500 µl Buffer AW2. Sentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 3 menit. Buang cairan yang berada di bagian bawah, pindahkan Dneasy Mini Spin Column ke atas Elution Tube dengan menambahkan 200 µl Buffer AE pada bagian tengah Mini Spin Column, inkubasi selama 1 menit pada suhu ruangan. DNA telah diisolasi dan berada di dalam Elution Tube.

Amplifikasi DNA dan Elektroforesis Gel

Proses amplifikasi dengan menggunakan metode PCR *(Polymerase Chain Reaction)*. DNA bakteri simbion spons SF1 diamplifikasi dengan menggunakan primer *8F (5'-AGAGTITGATCCTGGCTA-3')* dan *1492 R (5'TACCTTACGACTT-3')*, dengan pengaturan suhu sebagai berikut: predenaturasi pada suhu 95ºC selama 2 menit, denaturasi pada 95ºC selama 40 detik yang dilakukan sebanyak 37 siklus, annealing pada suhu 50ºC selama 40 detik, elongasi pada suhu 72ºC selama 40 detik dan 1 siklus perpanjangan akhir pada suhu 72ºC selama 1 menit.

Masing-masing tahap yaitu isolasi DNA dan amplifikasi bakteri simbion spons SF1 membutuhkan pengujian elektroforesis gel untuk mengetahui keberhasilan dari tahap yang sudah dilakukan. Munculnya keberadaan pita DNA yang merupakan tanda keberhasilan dari isolasi DNA dan amplifikasi DNA bakteri simbion SF1 yang dilakukan.

Gel yang digunakan adalah gel berkonsentrasi 1% yang ditambahkan dengan maestrosafe prestained sebanyak 2 µL. Produk amplifikasi DNA sebanyak 4 µL dan 1 µL 10x loading buffer dan dimasukkan kedalam masing-masing sumur yang telah disiapkan. Salah satu sumur dalam gel diisi dengan 2 µL ladder DNA marker (1 kb). Elektroforesis menggunakan 1x TBE buffer dan dialiri dengan tegangan listrik sebesar 80 volts dengan waktu kurang lebih 20 menit. Hasil pemeriksaan gel elektroforesis diamati lewat sinar UV-transluminator dan kemudian didokumentasikan menggunakan kamera

HASIL DAN PEMBAHASAN

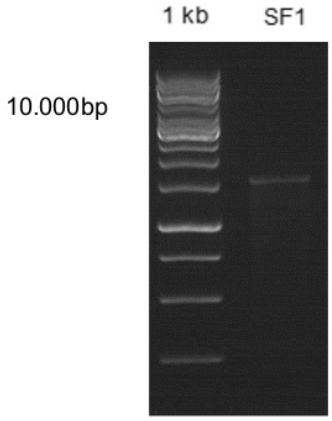
Amplifikasi dan Elektroforesis DNA Bakteri Simbion Spons SF1

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan primer *8F (5'AGAGTITGATCCTGGCTA-3')* dan *1492 R (5'TACCTTACGACTT-3')*. Primer merupakan poin terpenting dalam menentukan keberhasilan dalam proses amplifikasi. Primer berupa untai DNA pendek utas tunggal (oligonukleotida) yang berfungsi untuk menginisiasi reaksi proses polimerisasi DNA secara in vitro, mengenali dan menandai fragmen sampel DNA (template) yang akan di amplifikasi (Peloa *dkk*, 2015).

Berdasarkan hasil amplifikasi, dapat dilihat bahwa sampel DNA bakteri simbion SF1 menunjukan pita DNA yang tampak kurang jelas dan kurang tebal, bahkan hampir tak terlihat dan berada pada panjang basa 600bp (Gambar 2). Dengan kata lain hasil amplifikasi yang dilakukan dianggap kurang sempurna. Beberapa faktor yang menyebabkan hasil amplifkasi yang kurang baik diantaranya kondisi atau kualitas dan kuantitas sampel DNA tersebut. Selain itu, kurangnya ketelitian peneliti dalam proses ekstraksi DNA dan amplifikasi juga adanya kemungkinan ketidakcocokan primer yang digunakan menjadi faktor yang mempengaruhi

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

keberhasilan proses amplifikasi (Wehantouw *dkk*, 2016).



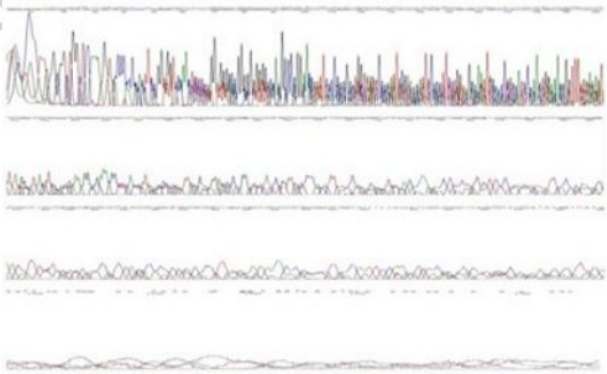
Gambar 2. Hasil Elektroforesis produk amplifikasi DNA bakteri SF1 simbion spons *Facaplysynopsis sp.* dengan marker dna ladder 1 kb.

Oleh karena itu, dalam pelaksanaan proses amplifikasi optimasi PCR penting dilakukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini menyangkut suhu denaturasi dan annealing DNA dalam mesin PCR. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya penempelan primer.

Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi karena primer tidak menempel atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya.

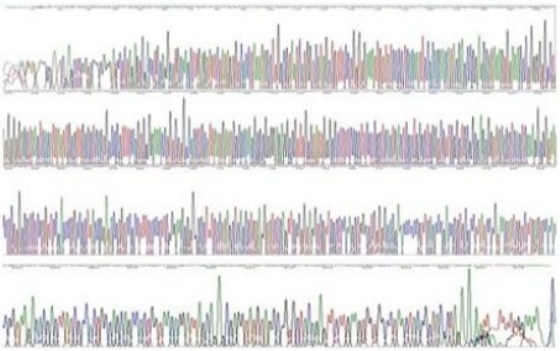
Sekuensing DNA Bakteri Simbion Spons SF1

Sekuensing DNA merupakan suatu proses pengurutan nukleotida pada suatu fragmen DNA. Hasil sekuensing DNA bakteri simbion dengan spons diperoleh dalam bentuk format kromatogram yang terdiri dari primer *forward* (Gambar 3) dan primer *reverse* (Gambar 4).



Gambar 3. Kromatogram hasil pengurutan DNA Bakteri Simbion Spons SF1 menggunakan primer *Forward*

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax



Gambar 4. Kromatogram hasil pengurutan DNA Bakteri Simbion Spons SF1 menggunakan primer *Reverse*

Kromatogram diperoleh dalam bentuk peak yang berwarna-warni dengan nukleotida A (Adenin) berwarna hijau, nukleotida G (Guanin) berwarna hitam, nukleotida C (citosin) berwana biru dan nukleotida T (timin) berwarna merah. (Untu *dkk*, 2015). Hasil sekuensing DNA bakteri simbion spons SF1 menghasilkan urutan basa nukleotida sebanyak 600 bp, dengan urutan nukeotida sebagai berikut:

TAGGGGCCTGCATCTACAATGCAG
CATGTGGTTTAATTCGAGCGGACAG
AAGGGAGCTTGCTAGGTCTTGACAT
CCTCTGACAACCCGGATGTTAGCG
CTTTCCCTTCGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTGGTGCATGGTTGTAACCTG
CCTGTGTCGTGAAAGACTGGGATA
ACTCCGGGAAACCGGAGCTAATAC
CGGATAGTTCCTTGAACCGCATGGT

KESIMPULAN

DNA bakteri SF1 simbion spons *Facaplysynopsis sp* berhasil diisolasi menggunakan InnuPREP DNA Mini Kit. Dan berhasil diamplifikasi menggunakan pasangan primer *8F (5'AGAGTITGATCCTGGCTA-3')* dan *1492 R (5'TACCTTACGACTT-3')*, yang ditandai dengan munculnya pita pada posisi panjang basa 600 bp.

DAFTAR PUSTAKA

Ginting, E.L,. Warouw, V,. Suleman, R.W. 2010. Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Kasar Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Sponge *Acanthostrongylophora sp. Jurnal*

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Pesisir dan Laut Tropis. 6(3):160-163.

Hebert, P.D,. Cywinska, A., Ball, S.L. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B : *Biological Sciences*, 270(151):313-321.

Lee, Y.K., Jung H.L, Hong K.L. 2001. Microbial Symbiosis in Marine Sponges, *TheJournal of Microbiology*, 3(9):254-264.

Peloa, A,. Wullur, S,. Sinjal, C.A. 2015. Amplifikasi Fen Cytochrome Oxidase Subunit I Dar Sampel Sirip Ikan Hiu Dengan Menggunakan Beberapa Pasangan. Primer.Jurnal *Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1):37-42.

Tindi, M,. Mamangkey, G,. Wullur, S. 2017. DNA barcode dan analisis filogenetik molekuler beberapa jenis bivalvia asal perairan Sulawesi Utara berdasarkan Gen COI. Junal *Pesisir dan Laut Tropis*. 1(2):32-38.

Untu, P,. Rumengan I., Ginting, E. 2015. Identifikasi Mikroba yang Koeksis dengan ascidia *Lissoclinum patella* Menggunakan Sekuens gen 16S rRNA. Jurnal *Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1). 8-14.

Wantania, L., Ginting, E., Wullur, S. 2016. Identifikasi Sirip Ikan Hiu yang Didapat dari Pengumpul di Minahasa Tenggara menggunakan DNA Barcode. Jurnal *LPPM Bidang Sains & Teknologi*, Universitas Sam Ratulangi Manado. 3(1):57-65.

Wehantouw, A., Ginting,E., Wullur, S. 2016. Identifikasi Sirip Ikan Hiu yang Didapat dari Pengumpul di Minahasa Tenggara menggunakan DNA Barcode. Jurnal *Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1). 62-68.

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

AMPLIFIKASI ISOLAT BAKTERI SF1 SIMBION SPONS Facaplysynopsis sp. DARI PERAIRAN TONGKEINA, SULAWESI UTARA

ORIGINALITY REPORT

19%	14%	11%	4%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Era Monalisa, Feky Recky Mantiri, Hanry Jefri Lengkong. "Kajian Variasi Sekuens Interspesies dan Filogeni Kelelawar Pteropus sp. Menggunakan Gen COI", Jurnal MIPA, 2019 Publication	2%
2	Franciskus K.I. Manik, Darus J Paransa, Desy MH Mantiri, Elvy L Ginting, Veibe Warouw, Rudy Moningkey. "ISOLASI PIGMEN KAROTENOID PADA KEPITING Metopograpsus sp. BETINA", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2020 Publication	2%
3	diansagitafitri.blogspot.com Internet Source	1%
4	journal.uin-alauddin.ac.id Internet Source	1%
5	unkripjournal.com Internet Source	1%

6	moam.info Internet Source	1 %
7	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	1 %
8	docslide.us Internet Source	1 %
9	repository.unair.ac.id Internet Source	1 %
10	isnet.or.id Internet Source	1 %
11	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	1 %
12	Submitted to University of Southampton Student Paper	1 %
13	Submitted to Pukyong National University Student Paper	1 %
14	Akhmad Sukri. "ANALISIS FILOGENETIK KERBAU LOKAL LOMBOK TENGAH (Bubalus bubalis) BERDASARKAN PENANDA DNA MIKROSATELIT", Florea : Jurnal Biologi dan Pembelajarannya, 2014 Publication	1 %
15	Erma Primanita Hayuningtyas, Didik Ariyanto, Khairul Syahputra. "HUBUNGAN ANTARA	1 %

PERTUMBUHAN DENGAN KEBERADAAN GEN TAHAN PENYAKIT MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC) PADA IKAN MAS (Cyprinus carpio)", Jurnal Riset Akuakultur, 2016
Publication

16	xuum.swiat-gierek.pl Internet Source	1%
17	repository.ung.ac.id Internet Source	<1%
18	eprints.radenfatah.ac.id Internet Source	<1%
19	repository.unikama.ac.id Internet Source	<1%
20	jurnal.fp.unila.ac.id Internet Source	<1%
21	rumahvaksinasi.id Internet Source	<1%
22	pesquisa.bvsalud.org Internet Source	<1%
23	dnainformasi.blogspot.com Internet Source	<1%
24	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	<1%

25	Yuliana Macpal, Veibe Warouw, Deiske A Sumilat, James J.H. Paulus, Natalie D.C. Rumampuk, Reni L. Kreckhoff. "AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTI-UV BEBERAPA ASCIDIAN DARI PERAIRAN PANGALISANG BUNAKEN", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2019 Publication	<1%

Exclude quotes	On	Exclude matches	Off
Exclude bibliography	On		