

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI *Lactobacillus* spp. DAN *Bifidobacterium* spp.
PADA USUS *Pongo pygmaeus***

Disusun oleh:

Maria Stares Axl Bone

NPM : 120801274



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017



**IDENTIFIKASI *Lactobacillus* spp. DAN *Bifidobacterium* spp.
PADA USUS *Pongo pygmaeus***

SKRIPSI

Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Guna memenuhi syarat untuk memperoleh derajat Strata-1 (S1)

Disusun oleh:
Maria Stares Axl Bone
NPM : 120801274



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul

**IDENTIFIKASI *Lactobacillus* spp. DAN *Bifidobacterium* spp.
PADA USUS *Pongo pygmaeus***

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Maria Stares Axl Bone

NPM: 120801274

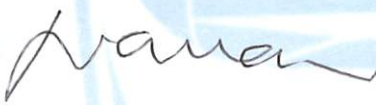
Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada hari Jumat, tanggal 13 Januari 2017

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,



(Ir. Ign. Pramana Y, M.Si. Ph.D.)

Anggota Tim Penguji



(Dra. E. Mursyanti, M.Si.)

Pembimbing Kedua



(Dr. Felicia Zahida, M.Sc.)

Yogyakarta, 31 Januari 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



Drs. B. Boy R Sidharta, M.Sc.

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Maria Stares Axl Bone

NPM : 12 08 01274

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI *Lactobacillus* spp. DAN**

Bifidobacterium* spp. PADA USUS *Pongo pygmaeus

menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya di atas, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 13 Januari 2017

Yang menyatakan



Maria Stares Axl Bone

120801274

For with God nothing shall be impossible – Luke 1:37

The deepest gratitude from me belongs to my Lord, Jesus Christ.
My faith on Him doesn't make things easy, it makes them possible.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yesus Kristus karena berkat cinta-Nya yang tak terhingga, penulis berhasil menghadapi berbagai rintangan dan akhirnya bisa menyelesaikan penelitian ini. Selama proses penyusunan skripsi ini, penulis menyadari banyak dibantu berbagai pihak luar biasa, yang tanpa kehadiran mereka, penulis tidak akan bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Maka pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. *The strongest and most beautiful woman I've ever known, Sephora Leilani Laya, my wonderful Mama, and the most warm-hearted person with extraordinary mind, Dominique Volta Bone, my lovely Papa. Thank you for never give up, no matter how hard the situation is, for the endless support and unconditional love that you both never stop giving.*
2. *Ursula Quera Nandadevi Bone dan Anastasia Valya Miroku Bone, my grown-up little girls, my angels, and sources of happiness. Thank you for everything we shared, through good, and mostly, hard times. Both of you have become the best motivation for the writer to achieve more, to become a better person, a better sister.*
3. *Stefanus Rony Kristianto, the miracle man. The writer is so lucky to know you personally, to have your remarkable support. To be loved by you is the best thing that could've ever happened. Thank you for your kindness, all the love and time you gave more than the writer deserves.*

4. Ignasius Pramana Yuda, dosen pembimbing dan penasihat terjitu dengan wawasan yang sangat luas, terimakasih sudah mendampingi dan menuntun penulis. Penulis belajar banyak hal dari Bapak, mulai dari kedisiplinan, ketekunan, dan integritas, khususnya sebagai seorang peneliti sejati.
5. Felicia Zahida, wanita penuh inspirasi. Terimakasih sudah mendampingi penulis dengan penuh kesabaran dan cinta kasih. Sangat beruntung rasanya bisa mengenal Ibu dan belajar banyak hal dari Ibu, bukan hanya bagaimana menjadi seorang sarjana sains seutuhnya, melainkan juga menjadi wanita tangguh yang tekun menjalani proses, apa pun rintagannya.
6. Worawidh Wajjwalku, *the kindest and the most warm-hearted person I've ever met abroad. Thank you so much for everything you've done, the primer, the guidance, and all the wise advices. I feel beyond lucky to know you, to have you to be part of this important step in my life, this research. I've learned a lot from you.*
7. Pi Nid, Pi Peung, Pi Aom, Pi Fay, Pi Pun, Khun Rot, and dr. Art, *no words can describe how grateful I am to be helped by you all. Thank you for the support, laughs, and exciting experiences.*
8. Fransiskus Sinung Pranata, terimakasih untuk kepekaan dan kebaikan hati Bapak yang senantiasa membantu penulis, untuk saran-saran yang bijaksana, dan tidak pernah lelah menginformasikan beasiswa hingga akhirnya penulis bisa menyelesaikan kuliah dan semua administrasinya dengan baik.

9. Sena Subrata, Dosen Fakultas Kehutanan UGM, terimakasih untuk banyak ilmu yang telah dibagikan ke penulis, bantuan berupa kit, dan bimbingan yang sangat bermanfaat.
10. Seluruh laboran dan bagian TU Fakultas Teknobiologi yang sudah menjadi keluarga bagi penulis selama di kampus, terimakasih untuk pelayanan yang luar biasa dan penuh cinta kasih.
11. Dominique Marcello Bone, Debora Elizabeth Salama Böck, Nicolaas Felix Tontoeloes Böck, Refaline Charma Sianturi, dan Wola Ruth Apriliani Böck, pribadi-pribadi yang selalu ada ketika penulis membutuhkan pertolongan, terimakasih sudah percaya bahwa penulis akan meraih gelar sarjana, untuk semua dukungan, khususnya doa dan cinta yang diberikan. Tanpa bantuan Tante dan Oom, penulis tidak akan sampai sejauh ini.
12. Yohana Setiati dan Andreas Sucipto, terimakasih untuk doa, semangat, dan segala bentuk bantuan yang sudah diberikan. Kehadiran Tante dan Oom selama proses penelitian ini sangat berarti bagi penulis.
13. Tity Levinawati Sainawal, *sister, best friend, writer's 911 call. Your inner beauty and the way you see the world inspires the writer a lot. Thank you for all the laughs, tears, and foods we shared. Every single day was and will be an amazing adventure with you.*
14. Alumni Kolese Kanisius 87 (CC87) yang telah memberikan dukungan melebihi yang penulis bisa syukuri, terimakasih untuk semua kebaikan dan ketulusan yang sangat menyentuh dan menginspirasi penulis dalam membantu sesama kini dan nanti.

15. Rein Nayoan, Rocky A. C. Hatibie, Edward Multido Sirait, Charles Limantoro, Ricko Bagus Ananta, dan Laurentius Herry Kelana, pribadi-pribadi luar biasa yang kehadirannya tidak terduga, namun sangat berkesan. Terimakasih sudah berkenan menjadi bagian dari keluarga penulis, terimakasih untuk segala bentuk bantuan, doa, dan semangat yang telah diberikan.
16. Romo Dominicus Donny Widyarso, Pr. dan Romo Tri Wahyu yang sudah menjadi perpanjangan tangan Tuhan untuk membantu penulis hingga bisa menyelesaikan pendidikan hingga meraih gelar sarjana.
17. Pihak Gembira Loka Zoo yang sudah membantu kelancaran pengambilan sampel dan mengenal objek penelitian dengan baik.
18. Semua pribadi yang tidak bisa disebutkan satu-persatu dengan berbagai perannya yang luar biasa, yang telah mendukung dan membantu kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang perlu diperbaiki dalam penulisan laporan akhir ini. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima kritik dan saran yang bersifat membangun sehingga laporan ini menjadi lebih baik dan dapat menambah pengetahuan penulis di masa yang akan datang.

Yogyakarta, 13 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal.
Judul	i
Pengesahan	iii
Pernyataan Bebas Plagiarisme	iv
Halaman Persembahan	v
Prakata	vi
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Intisari	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian	4
C. Masalah Penelitian	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Mikrobioma	6
B. <i>Pongo pygmaeus</i>	8
C. Mikrobial dan Kesehatan Mental Primata	14
D. Teknik Identifikasi Mikrobial pada Usus	17
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	23
B. Populasi dan Sampel	23
C. Alat dan Bahan	23
D. Cara Kerja	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Ekstraksi	31

B. Amplifikasi	32
C. Sekuensing	33
D. Identifikasi	34
E. Filogeni	39
BAB V KESIMPULAN	
A. Simpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perilaku Hewan Mempengaruhi Mikrobioma.....	7
Tabel 2. Mikrobia Mempengaruhi Perilaku Inang.....	8
Tabel 3. Persentase Penurunan Jumlah Orangutan Kalimantan.....	13
Tabel 4. Sampel Orangutan.....	23
Tabel 5. Hasil Identifikasi Bakteri.....	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Hasil Elektroforesis DNA Genomik tiap Sampel.....	31
Gambar 2. Hasil Amplifikasi Sampel dengan Primer Bifido 1w dan 4w.....	32
Gambar 3. Hasil Amplifikasi Sampel dengan Primer Lacto 1w dan 2w.....	33
Gambar 4. Filogeni <i>Bifidobacterium</i> spp.....	39
Gambar 5. Filogeni <i>Lactobacillus</i> spp.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Sekuensing <i>Lactobacillus</i> spp.....	50
Lampiran 2. Hasil Sekuensing <i>Bifidobacterium</i> spp.....	55

INTISARI

Lactobacilli dan *Bifidobacteria* telah diketahui bermanfaat sebagai probiotik yang mampu meningkatkan kesehatan pencernaan inangya. Studi metabolisme dan karakterisasi telah banyak dilakukan, namun penelitian mengenai peranan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* pada primata, khususnya yang terancam punah, masih terbatas. Orangutan (*Pongo pygmaeus*) merupakan primata yang terancam punah akibat perburuan dan kehilangan habitat. International Union for Conservation of Nature (IUCN) memprediksi pada tahun 2025 populasi orangutan akan berkurang hingga 82%. Salah satu kesulitan dalam konservasi orangutan, khususnya pada anakan yang ditinggal mati induknya akibat perburuan, adalah depresi. Penelitian terbaru menemukan bahwa depresi bisa dipengaruhi oleh keberadaan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* pada saluran pencernaan.

Berdasarkan permasalahan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* pada usus *P. pygmaeus*. Sebanyak 4 sampel feses *P. pygmaeus* dari Kebun Binatang Gembira Loka dikoleksi dan disimpan dalam etanol 95% pada suhu 4 °C. Fragmen 16s rRNA yang diperoleh dari hasil ekstraksi diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer spesifik untuk bakteri dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, yaitu Lacto-1w forward [5'-GAACGCTGGCGGCGTGCCTCAT-3'], Lacto-2w reverse [5'-CAGGGTATCTAATCCTGTTCCGGTa-3'], Bif-1w forward [5'-ACGGGTGAGTAATGCGTGACC-3'], dan Bif-4w reverse [5'-TGGTGTTCTTCCCGATATCTTCA-3'].

Tahapan PCR diawali dengan predenaturasi pada suhu 98°C selama 5 menit. Tahap selanjutnya adalah amplifikasi sebanyak 40 siklus yang terdiri dari denaturasi (98°C, 5 detik), *annealing* (60°C, 5 detik), dan ekstensi (72°C, 25 detik). Ekstensi akhir dilakukan pada suhu 72°C selama 1 menit. Hasil amplifikasi lalu disekuensing, kemudian diidentifikasi menggunakan BLAST. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa pada usus *P. pygmaeus* di Kebun Binatang Gembira Loka terdapat spesies *L. johnsii*, *L. taiwanensis*, *B. angulatum*, *B. merycicum*, dan *B. dentium*.

Kata Kunci: PCR, identifikasi, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, mikrobioma, konservasi, primata, *Pongo pygmaeus*, orangutan