

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Pernyataan Bebas Plagiarisasi.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Daftar Isi.....	vii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Abstrak.....	xiii
<i>Abstract</i>	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	6
1.3 Keaslian dan Kedalaman Penelitian.....	6
1.4 Tujuan Penelitian	9
1.5 Manfaat Penelitian.....	9
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Pustaka.....	10
2.1.1 Perkembangan Perspektif Pengelolaan Limbah Uranium.....	10
2.1.2 Interaksi Bakteri dengan Uranium.....	13
2.1.3 Bioremediasi Uranium Melalui Pemanfaatan Fosfat.....	17
2.1.4 Metabolisme Polifosfat pada Bakteri dan Interaksinya dengan Uranium.....	22
2.1.5 Karakterisasi Molekular Isolat Bakteri Polifosfat dan Toleran Uranium.....	28
2.2 Landasan Teori.....	30
2.3 Hipotesis.....	34
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Isolasi Bakteri dari Limbah Radioaktif Cair Aktivitas Rendah.....	36
3.2 Karakterisasi Fenotipik.....	38

3.3	Pengelompokan Isolat Bakteri Toleran Uranium 2 mM dengan <i>rep</i> -PCR..	39
3.3.1	Isolasi DNA Bakteri Toleran Uranium 2 mM.....	39
3.3.2	Teknik <i>rep</i> -PCR.....	42
3.3.3	Analisis Data <i>rep</i> -PCR.....	43
3.4	Skrining untuk Mendapatkan Bakteri Polifosfat.....	44
3.5	Penentuan Isolat Bakteri Polifosfat Unggul Untuk Biopresipitasi Uranium	45
3.6	Karakterisasi Isolat Bakteri Polifosfat Secara Molekuler.....	46
3.6.1	<i>Sequencing</i> Gen 16S rRNA.....	46
3.6.2	Analisis Data Sekuen Gen 16S rRNA.....	48
3.6.3	<i>Whole Genome Sequencing</i> Isolat Bakteri Polifosfat Terpilih.....	49
3.7	Pengaturan Metabolisme Polifosfat dan Biopresipitasi Uranium.....	50
3.7.1	Perlakuan 1	51
3.7.2	Perlakuan 2.....	53
3.7.3	Perlakuan 3.....	53
3.7.4	Perlakuan 4.....	54
3.8	Penyiapan Sampel Bakteri untuk Analisis SEM/EDX (<i>Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy</i>).....	54
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		
4.1	Isolasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri Toleran Uranium.....	55
4.2	Pengelompokan Isolat Bakteri Toleran Uranium 2 mM dengan Teknik <i>rep</i> -PCR.....	59
4.3	Skrining Penetapan Bakteri Polifosfat.....	60
4.4	Skrining Bakteri Polifosfat Unggul untuk Pengujian Biopresipitasi Uranium.....	64
4.5	Analisis Filogenetik Molekular Bakteri Polifosfat Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA.....	65
4.6	Biopresipitasi Uranil Fosfat melalui Pengaturan Metabolisme Polifosfat...	67
4.7	Analisis Molekular dan <i>In-Silico</i> Gen <i>ppk</i> dan <i>ppx</i> pada <i>B. cereus</i> A66.....	78
4.7.1	Organisasi Gen <i>ppk</i> dan <i>ppx</i> pada Genom <i>B. cereus</i> A66.....	83
4.7.2	Analisis Keserupaan Urutan Asam Amino Gen <i>Polifosfatkinase</i> dan <i>Eksopolifosfatase</i> pada Beberapa Bakteri.....	84

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	87
5.2 Saran.....	88
RINGKASAN.....	89
<i>SUMMARY</i>	96
DAFTAR PUSTAKA.....	102
LAMPIRAN.....	110

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Daftar Mikroorganisme yang Memiliki Enzim PPK1 dan/ atau PPK2	24
Tabel 3.1	Kondisi Reaksi PCR untuk Amplifikasi Gen 16S rRNA	47
Tabel 4.1	Karakteristik Fisikawi dan Kimiawi Limbah Radioaktif Cair Aktivitas Rendah Fase Air dan Fase Organik	55
Tabel 4.2	Jumlah Isolat Bakteri Toleran Uranium dari Fase Air dan Fase Organik Setelah Dilakukan Skrining Bertingkat Konsentrasi Uranium	56
Tabel 4.3	Hasil Pengamatan Morfologi Koloni, Pengecatan Gram, dan Laju Pertumbuhan (μ) Terhadap 51 Isolat Bakteri Toleran Uranium	57
Tabel 4.4	Hasil Seleksi Penetapan Bakteri Polifosfat dari 26 Isolat Bakteri Toleran Uranium yang Ditumbuhkan Secara Berseri pada Medium <i>P-uptake</i> , medium <i>P-limited</i> dan medium <i>P-free</i>	61
Tabel 4.5	Hasil Skrining Penetapan Isolat Bakteri Polifosfat Unggul dari antara 7 Isolat Bakteri Polifosfat Berdasarkan Kemampuan Mengakumulasi Polifosfat di dalam Sel	64
Tabel 4.6	Matrik Keserupaan (%) dan Perbedaan Nukleotida Gen 16S rRNA Antara 6 Isolat Bakteri Polifosfat dengan Strain Acuan <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579 ^T	66
Tabel 4.7	Matrik Keserupaan (%) dan Perbedaan Nukleotida Sekuen Gen 16S rRNA Antara Isolat Bakteri A67-I dengan Strain Acuan <i>Acinetobacter radioresistens</i> DSM 6976 ^T	67
Tabel 4.8	Pengelompokan Gen Hasil Anotasi Berdasarkan Kategori <i>Cluster of Orthologous Groups</i> (COGs)	80

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Ilustrasi Skematik Imobilisasi Uranium oleh Bakteri	14
Gambar 3.1	Ruang Penyimpanan Limbah Radioaktif BATAN Yogyakarta	37
Gambar 3.2	Skema Tahapan Pembuatan <i>Library</i> Fragmen DNA pada Proses WGS	50
Gambar 4.1	Dendogram yang Menunjukkan Tingkat Kekerupaan 51 Isolat Bakteri Toleran Uranium dengan rep-PCR	59
Gambar 4.2	Tujuh Isolat Bakteri Polifosfat pada Medium P-free dan hasil Pengecatan Gram Bakteri Polifosfat (a,b)	62
Gambar 4.3	Pohon Filogeni yang Dikonstruksi Berdasarkan Algoritma <i>Neighbour-Joining</i> yang Menunjukkan Hubungan Kekerabatan Antara 7 Isolat Bakteri Polifosfat Atas Dasar Sekuen Gen 16S rRNA, dengan 2 Isolat Bakteri Sebagai Acuan	65
Gambar 4.4	Biopresipitasi Uranil Fosfat oleh Sel Bakteri <i>B. cereus</i> A66 dengan tahap Pelaparan Fosfat (Perlakuan 1)	68
Gambar 4.5	Biopresipitasi Uranil Fosfat oleh Sel Bakteri <i>B. cereus</i> A-66 tanpa tahap Pelaparan Fosfat (Perlakuan 2)	69
Gambar 4.6	Analisis EDX dan visualisasi SEM dari Sel <i>B. cereus</i> A66 yang dipanen pada jam ke-6 dalam larutan Uranium 1 mM (Perlakuan 1)	70
Gambar 4.7	Analisis EDX dan SEM dari Sel <i>B. cereus</i> A66 yang dipanen pada jam ke-6 dalam larutan Uranium 1 mM (Perlakuan 2)	71
Gambar 4.8	Biopresipitasi Uranil Fosfat oleh Bakteri <i>B. cereus</i> A66 yang dikultur sebagai Prakultur dalam Medium TGY (Perlakuan 3)	72
Gambar 4.9	Biopresipitasi Uranil Fosfat oleh Sel Bakteri <i>B. cereus</i> A66 yang dalam Keadaan Lapar Fosfat Dipindahkan ke dalam Larutan Uranium (Perlakuan 4)	73
Gambar 4.10	Analisis EDX dan SEM dari Sel <i>B. cereus</i> A66 yang Dipanen pada jam ke-12 dalam Larutan Uranium 1 mM (Perlakuan 3)	74
Gambar 4.11	Analisis EDX dan visualisasi SEM dari Sel <i>B. cereus</i> A66 yang dipanen pada jam ke-24 dalam Larutan Uranium 1 mM (Perlakuan 4)	74
Gambar 4.12	Genom lengkap <i>Bacillus cereus</i> A66	82
Gambar 4.13	Posisi gen <i>ppk</i> dan <i>ppx</i> pada genom <i>Bacillus cereus</i> A66	84
Gambar 4.14	Dendogram Berdasarkan Analisis Kekerupaan Urutan Asam Amino dari Gen <i>ppk</i> <i>B. cereus</i> A66 dan Beberapa Strain Bakteri Acuan	85
Gambar 4.15	Dendogram Berdasarkan Analisis Kekerupaan Urutan Asam Amino dari Gen <i>ppx</i> <i>B. cereus</i> A66 dan Beberapa Strain Bakteri Acuan	86

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Komposisi Media dalam Penelitian Ini	111
Lampiran 2	Skema Cara Isolasi Bakteri Toleran Uranium dari Limbah Radioaktif Cair Aktifitas Rendah PSTA, BATAN, Yogyakarta	113
Lampiran 3	Skema Cara Skrining Isolat Bakteri Paling Toleran terhadap Uranium 2 mM	114
Lampiran 4	Cara Menghitung Laju Pertumbuhan Spesifik (μ), dengan Contoh Isolat Bakteri A66	115
Lampiran 5	Cara Pembuatan Larutan dan Agarose Gel Untuk Elektroforesis	116
Lampiran 6	Cara Mengukur Fosfat dalam medium dan dalam sel	118
Lampiran 7	Cara Membuat Medium dan Reagen untuk Pengukuran Fosfat	120
Lampiran 8	Cara Optimasi Panjang Gelombang untuk Pengukuran Fosfat	121
Lampiran 9	Cara Pembuatan Kurva Standar Fosfat Sitoplasma Sel	122
Lampiran 10	Cara Pembuatan Kurva Standar Fosfat pada Medium TGY	123
Lampiran 11	Cara Pembuatan Kurva Standar Fosfat pada Medium P-free	124
Lampiran 12	Cara Pembuatan Kurva Standar Fosfat pada Medium P-Uptake	125
Lampiran 13	Cara Pembuatan Kurva Standar Fosfat pada Larutan Uranium 1 mM	126
Lampiran 14	Cara Mengukur Uranium pada Sampel	127
Lampiran 15	Cara Membuat Reagen dan Medium untuk Pengukuran Uranium	128
Lampiran 16	Cara Optimasi Panjang Gelombang untuk Pengukuran Uranium	129
Lampiran 17	Cara Pembuatan Kurva Standar Uranium yang Tersisa pada Larutan Uranium 1 mM	130
Lampiran 18	Cara Pembuatan Kurva Standar Uranium Sitoplasma Sel pada Larutan Uranium 1 mM	131
Lampiran 19	Visualisasi SEM bakteri <i>Bacillus cereus</i> A66 (perlakuan 1, 2, 3 dan 4)	132
Lampiran 20	Hasil Pengelompokan 51 Isolat Bakteri Toleran Uranium dengan rep-PCR	134
Lampiran 21	Peta Gen <i>ppk Bacillus cereus</i> A66	138
Lampiran 22	Peta Gen <i>ppx Bacillus cereus</i> A66	139
Lampiran 23	Urutan asam amino PPK dan PPX <i>B. cereus</i> A66 dan bakteri acuan	140