ANALISIS SEKUEN DAN KLONING GEN LACTATE DEHIDROGENASE (LDH) DARI BERBAGAI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT

Oleh: Ixora Sartika Mercuriani, Bernadetta Octavia, Heru Nurcahyo, Astuti

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri penghasil asam laktat isolat B25 berdasarkan marka gen 16S rRNA, mendapatkan klon DNA hasil amplifikasi menggunakan primer spesifik terhadap gen LDH dari bakteri penghasil asam laktat B25 dan B26 dengan teknik PCR, mengetahui tingkat homologi fragmen DNA/gen yang berhasil diamplifikasi/diisolasi dengan sekuen gen-gen LDH yang ada di genebank.

Penelitian ini adalah penelitian eksploratif. Identifikasi spesies bakteri dilakukan berdasarkan marka gen 16S rRNA dengan metode PCR yang dilanjutkan dengan sekuensing. Sekuen yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Spesies dari isolat B25 selanjutnya ditentukan berdasar kemiripan sekuen (99%) dan kekerabatannya pada pohon filogenetik. Isolasi gen-gen homolog LDH dilakukan melalui amplifikasi gen dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik terhadap gen-gen LDH homolog (ldb 1010, ldb 0101, ldb 1147, ldb 2021, ldb 0813). Sekuensing fragmen hasil amplifikasi selanjutnya dilakukan di 1st BASE Laboratories. Analisis sekuen dilakukan menggunakan program MegaX dan Clone 9. Konfirmasi homologi dilakukan berdasar sekuen gen-gen LDH homolog yang ada di genebank (NCBI).

Identifikasi isolat B25 berdasarkan marka 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kemiripan dengan *Bacillus proteolyticus* sebesar 99,90%. Amplifikasi dengan primer spesifik terhadap gen-gen LDH homolog menghasilkan fragmen dengan ukuran yang bervariasi (500 - 2500 bp). Hasil analisis sekuen DNA yang dihasilkan melalui amplifikasi menggunakan primer spesifik terhadap gen ldb1010 (pengkode 2-hydroxyacid dehydrogenase) dari isolat B25 yang dibantu dengan konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa fragmen dengan panjang 1500 dan 1700 bp mempunyai kemiripan dengan gen pengkode 2-hydroxyacid dehydrogenase pada bakteri *Bacillus clarus* dengan tingkat kepercayaan sebesar 100%. Konfirmasi pada fragmen dengan panjang 650 dan 2500 bp memiliki kemiripan dengan gen pengkode D-lactate dehydrogenase (D-LDH) pada bakteri *Bacillus clausii* dengan tingkat serta kepercayaan pohon filogenetik 78%.

Kata kunci: Bakteri penghasil asam laktat, marka gen 16S rRNA, gen LDH homolog, 2-hydroxyacid dehydrogease