

Optimasi Isolasi Genom untuk Analisis Keragaman Mikrob pada Fermentasi Singkong "Peyem" dengan Teknik *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP)

Optimising Isolation of Genomic DNA for Analysis of Microbial Diversity on Fermented Cassava "Peyem" with Terminal Restriction Fragment Technique Length Polymorphism (T-RFLP)

Tati Barus

Fakultas Teknobiologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya
Jln. Jenderal Sudirman No. 51, Jakarta 12930
E-mail: tati.barus@atmajaya.ac.id

Abstract

"Peyem" is one of Indonesian traditional fermented food. The quality of fermented food depends on the activities of microbial during fermentation process. One of the molecular techniques that have been widely used to analyze the microbial community is Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP). The isolation of genom methods and types of primers used in the PCR are important in T-RFLP technique to assess microbial community. Therefore, this study aimed to compare four methods of isolation of the genome, and to compare the use of two primer sets to assess the bacterial community from "Peyem" with T-RFLP technique. The genome of a bacterial community was isolated using four methods: 1) the QIAamp DNA Stool Mini Kit (G1), 2) QIAamp DNA Stool Mini Kit + lysozyme (G2), 3) Genomic DNA Purification Kit (G3), and 4) Genomic DNA Purification Kit + lysozyme (G4). The 16S rDNA was amplified by PCR using two primer sets (forward primer 27F-FAM and reverse primer 1492R) and (forward primer 63F-FAM and reverse primer 1492R). The results showed the isolation of genomic using G4 method produced higher concentration of genome (330.20 ng / mL) than G1, G2, and G3 methods (163.50 ng / mL, 183.25 ng / mL, and 260.80 ng / mL). The forward primer 27F-FAM and reverse primer 1492R produced higher number of TRF peak (264) compared to 63F-FAM primer (177). The number of peak TRF on TRFLP technique illustrates the diversity of microbial communities. Therefore, using Genomic DNA Purification Kit + lysozyme and 27F-FAM-1492R primers is the best to analyze the bacterial community from "Peyem" using T-RFLP technique.

Keywords: Genome, Primer, T-RFLP, Microbe, "Peyem"

Abstrak

"Peyem" merupakan salah satu pangan fermentasi Indonesia. Kualitas pangan fermentasi bergantung pada aktivitas mikrob yang terdapat selama proses fermentasi berlangsung. Salah satu teknik molekuler yang telah banyak digunakan untuk menganalisis komunitas mikrob pada suatu habitat adalah teknik Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP). Metode isolasi genom dan jenis primer yang digunakan pada saat PCR penting pada teknik T-RFLP dalam mengkaji komunitas mikrob. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan empat metode isolasi genom dan membandingkan penggunaan dua set primer dalam mengkaji komunitas bakteri dari "Peyem" dengan teknik T-RFLP. Genom komunitas bakteri diisolasi dengan menggunakan empat metode, yaitu: 1) QIAamp DNA Stool Mini Kit (G1), 2) QIAamp DNA Stool Mini Kit + lisozim (G2), 3) Genomic DNA Purification Kit (G3), dan 4) Genomic DNA Purification Kit + lisozim (G4). Untuk mengamplifikasi 16S rDNA digunakan dua set primer, yaitu: 1) primer 27F-FAM dan 1492R, 2) primer 63F-FAM dan 1387R. Hasil penelitian menunjukkan isolasi genom dengan metode G4 menghasilkan konsentrasi genom tertinggi (330,20 ng/µl) dibandingkan metode G1, G2, dan G3 (163,50 ng/µl; 183,25 ng/µl, dan 260,80 ng/µl). Primer 27F-FAM menghasilkan jumlah peak yang lebih tertinggi (264) dibandingkan dengan

primer 63F-FAM (177). Jumlah peak TRF pada teknik TRFLP menggambarkan keragaman komunitas mikrob. Dengan demikian isolasi genom dengan *Genomic DNA Purification Kit + lysozyme* dan penggunaan pasangan primer 27F-FAM-1492R adalah yang terbaik untuk menganalisis komunitas bakteri dari "Peyem" dengan teknik T-RFLP.

Kata kunci: Genom, Primer, T-RFLP, Mikrob, "Peyem"