

**ANALISIS KEANEKARAGAMAN GENETIK BAKTERI
TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS AIR PUTIH
LEBONG BENGKULU MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh :

MADE DEWI SURI

08041282126032



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2025

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu
Menggunakan Gen 16S rRNA

Nama Mahasiswa : Made Dewi Suri

NIM : 08041282126032

Jurusan : Biologi

Telah disidangkan pada tanggal 12 Maret 2025.

Indralaya, Maret 2025

Pembimbing :

1. Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

()

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu Menggunakan Gen 16S rRNA

Nama Mahasiswa : Made Dewi Suri

NIM : 08041282126032

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 12 Maret 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan panitia sidang ujian skripsi.

Indralaya, Maret 2025

Pembimbing :

1. Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(.....
Muharni
.....)

Pembahas :

1. Prof. Dr. Salni, M.Si.
NIP. 196608231993031002
2. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si.
NIP. 197504272000122001

(.....
Salni
.....)

(.....
Elisa Nurnawati
.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya



Dr. Laila Hanum, M.Si.
NIP. 197308311998022001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Judul Skripsi : Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu
Menggunakan Gen 16S rRNA

Nama Mahasiswa : Made Dewi Suri

NIM : 08041282126032

Fakultas/Jurusan : FMIPA/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Maret 2025

Penulis



Made Dewi Suri

NIM. 08041282126032

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Made Dewi Suri
NIM : 08041282126032
Fakultas/Jurusan : FMIPA/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:
“Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu Menggunakan Gen 16S rRNA”.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Maret 2025

Penulis



Made Dewi Suri
NIM. 08041282126032

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kupersembahkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa karena atas kekuatan dari-Nya sajalah penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini penulis dedikasikan kepada kedua orang tua tercinta, Ayah dan Ibu, karena ketulusannya dari hati atas doa yang tak pernah putus dan semangat yang tak ternilai. Serta untuk kedua adikku tersayang dan Almamater kebanggaanku.

MOTTO

“Sesungguhnya tiada kata terlambat bagi seseorang untuk merubah jalan hidupnya menjadi lebih baik sekalipun”

“Persembahan berupa ilmu pengetahuan, lebih bermutu daripada persembahan materi, dalam keseluruhannya semua kerja ini berpusat pada ilmu pengetahuan”
(Bhagavad-gita, IV.33)

“Ia yang memiliki kepercayaan dan menguasai panca indrianya, mencapai ilmu pengetahuan, setelah memiliki ilmu pengetahuan dengan segera ia menemui kedamaian abadi”
(Bhagavad-gita IV.39)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu Menggunakan Gen 16S rRNA”. Skripsi ini disusun untuk dapat memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada kedua orang tua dan adik-adik penulis selaku pemberi dukungan baik secara moril maupun materiil selama proses perkuliahan berlangsung. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, nasihat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Prof. Dr. Salni, M.Si. dan Dr. Elisa Nurnawati, M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Laila Hanum, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Drs. Endri Junaidi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan dan nasihatnya selama proses perkuliahan.
4. Seluruh Dosen dan Staff Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
5. Kak Agus Wahyudi, M.Si. selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi, sekaligus sebagai kakak dan mentor yang selalu mengajarkan berbagai ilmu dan pengalamannya selama proses penelitian berlangsung.

6. Seluruh teman-teman Angkatan 2021, serta kakak Biologi Angkatan 2019 dan 2020 yang telah membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.
7. Serta pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Harapan penulis, semoga skripsi ini dapat menjadi referensi bagi sivitas akademik dan masyarakat umum atau dapat dilakukan penelitian lebih lanjut, sehingga didapatkan data yang lebih lengkap. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat diperlukan untuk kebaikan skripsi ini di masa mendatang.

Indralaya, Maret 2025

Penulis

Made Dewi Suri

NIM. 08041282126032

Genetic Diversity Analysis of Thermophilic Bacteria from Air Putih Hot Springs Lebong Bengkulu Using 16S rRNA Gene

Made Dewi Suri
NIM. 08041282126032

SUMMARY

Analysis of the genetic diversity of thermophilic bacteria is important to understand the species variation and functional potential possessed by bacteria. One commonly used approach to identify and classify bacteria is DNA-based genetic analysis, specifically using the 16S rRNA gene, because it is sustainable and universal with identical functions in all bacteria. Research on “Genetic Diversity Analysis of Thermophilic Bacteria from Air Putih Hot Springs Lebong Bengkulu Using 16S rRNA Gene” aims to analyze the level of genetic diversity of thermophilic bacteria and determine the kinship relationship between identified thermophilic bacteria. Phylogenetic relationship analysis was carried out using MEGA 11 application based on neighbor-joining algorithm with bootstrap value of 1000 repetitions. Genetic diversity analysis using the DnaSp 5.10. The isolation results obtained 8 isolates of thermophilic bacteria, namely AAL1, AAL2, AAL3, ABL2, ABL3, SCL1, SCL2, and SCL3, with characteristics that are bacillus-shaped, have gram-positive properties and produce endospores. The level of genetic diversity of eight isolates of thermophilic bacteria is included in the category of high genetic diversity with each value in each isolate in order; isolates AAL3, ABL2, ABL3, SCL2, and SCL3 value of 0.977; isolates AAL1 and AAL2 each value is 0.933; and isolate SCL1 value is 0.800. Based on the phylogenetic tree, it can be assumed that isolate AAL1 is closely related to *Bacillus sonorensis* strain NBRC 101234; isolate AAL2 has a close relationship with *Bacillus mojavensis* strain NBRC 15718; isolates AAL3, ABL2, ABL3, SCL2 and SCL3 have a close relationship with *Bacillus licheniformis* strain ATCC 14580; and isolate SCL1 has a close relationship with *Bacillus paralicheniformis* strain KJ-16.

Keywords: Thermophilic Bacteria, 16S rRNA Gene, Phylogenetic Analysis, Genetic Diversity.

Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu Menggunakan Gen 16S rRNA

Made Dewi Suri
NIM. 08041282126032

RINGKASAN

Analisis keanekaragaman genetik bakteri termofilik penting untuk memahami variasi spesies dan potensi fungsional yang dimiliki oleh bakteri. Salah satu pendekatan yang umum digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan bakteri adalah analisis genetik berbasis DNA, khususnya menggunakan gen 16S rRNA, karena bersifat lestari dan universal dengan fungsi yang identik pada semua bakteri. Penelitian tentang “Analisis Keanekaragaman Genetik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu Menggunakan Gen 16S rRNA” bertujuan untuk menganalisis tingkat keanekaragaman genetik bakteri termofilik serta menentukan hubungan kekerabatan antar bakteri termofilik yang teridentifikasi. Analisis hubungan filogenetik dilakukan dengan menggunakan aplikasi MEGA 11 berdasarkan algoritma *neighbor-joining* dengan nilai *bootstrap* sebanyak 1000 kali pengulangan. Analisis keanekaragaman genetik menggunakan aplikasi DnaSp 5.10. Hasil isolasi didapatkan 8 isolat bakteri termofilik yakni AAL1, AAL2, AAL3, ABL2, ABL3, SCL1, SCL2, dan SCL3, dengan karakteristik yaitu berbentuk basil, memiliki sifat gram positif dan menghasilkan endospora. Tingkat keanekaragaman genetik delapan isolat bakteri termofilik termasuk dalam kategori keanekaragaman genetik yang tinggi dengan nilainya masing-masing di setiap isolat secara berurutan yaitu; isolat AAL3, ABL2, ABL3, SCL2, dan SCL3 nilainya sebesar 0,977; isolat AAL1 dan AAL2 masing-masing nilainya yaitu 0,933; serta isolat SCL1 nilainya yaitu 0,800. Berdasarkan pohon filogenetik dapat diasumsikan isolat AAL1 berkerabat dekat dengan *Bacillus sonorensis* strain NBRC 101234; isolat AAL2 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Bacillus mojavensis* strain NBRC 15718; isolat AAL3, ABL2, ABL3, SCL2 dan SCL3 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Bacillus licheniformis* strain ATCC 14580; dan isolat SCL1 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Bacillus paralicheniformis* strain KJ-16.

Kata Kunci: Bakteri Termofilik, Gen 16S rRNA, Analisis Filogenetik, Keanekaragaman Genetik.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY	ix
RINGKASAN	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sumber Air Panas	7
2.2 Bakteri Termofilik	8
2.3 Keanekaragaman Genetik Bakteri	9
2.4 Gen Penyandi 16S rRNA.....	10
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	12
2.6 Elektroforesis Gel Agarosa.....	13
2.7 Sekuensing DNA	14
2.8 Analisis Filogenetik.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Cara Kerja.....	17
3.3.1 Pengambilan Sampel	17
3.3.2 Pengayaan Bakteri	19
3.3.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri.....	19
3.3.4 Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Termofilik	20
3.3.5 Isolasi DNA Bakteri Termofilik.....	21
3.3.6 Amplifikasi Gen 16S rRNA	23
3.3.7 Elektroforesis DNA Hasil PCR	23
3.3.8 Sekuensing DNA	24
3.3.9 Analisis BLAST dan Rekonstruksi Pohon Filogenetik	24

3.3.10 Analisis Keanekaragaman Genetik.....	25
3.4 Analisis Data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Isolat Bakteri Termofilik	26
4.2 Ekstraksi DNA Genom Isolat Bakteri Termofilik.....	32
4.3 Amplifikasi Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Termofilik	34
4.4 Jumlah Total Pasang Basa Isolat Bakteri Termofilik	36
4.5 Homologi <i>Search</i> BLAST (<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>) NCBI.....	37
4.6 Hasil <i>Alignment</i>	39
4.7 Keanekaragaman Genetik.....	47
4.8 Jarak Genetik	50
4.9 Pohon Filogenetik.....	55
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN.....	74
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	83
SPECIAL GREETING.....	85

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Daftar Primer yang Digunakan.....	17
Tabel 4.1.	Hasil Pengamatan Karakter Isolat Bakteri Termofilik	26
Tabel 4.2.	Konsentrasi DNA Genom Bakteri Termofilik Hasil Isolasi DNA....	33
Tabel 4.3.	Total Pasang Basa Sekuens Bakteri Termofilik	36
Tabel 4.4.	Hasil Identifikasi Bakteri Termofilik dengan Teknik BLAST	37
Tabel 4.5.	Variasi Basa Nukleotida Isolat Bakteri Termofilik.....	40
Tabel 4.6.	Variasi Basa Nukleotida Sekuens AAL1 (Dilihat dari Urutan Basa 1-934)	42
Tabel 4.7.	Variasi Basa Nukleotida Sekuens AAL2 (Dilihat dari Urutan Basa 1-1.398)	43
Tabel 4.9.	Variasi Basa Nukleotida Sekuens AAL3, ABL2, ABL3, SCL2, dan SCL3 (Dilihat dari Urutan Basa 1-480)	44
Tabel 4.10.	Variasi Basa Nukleotida Sekuens SCL1 (Dilihat dari Urutan Basa 1- 317).....	45
Tabel 4.10.	Keanekaragaman Genetik Sekuens Bakteri Termofilik	48
Tabel 4.11.	Jarak Genetik Isolat Bakteri Termofilik.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Peta Region Gen 16S rRNA	11
Gambar 3.1. Peta Lokasi <i>Sampling</i>	18
Gambar 4.1. Bentuk Sel Bakteri dan Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Termofilik.....	29
Gambar 4.2. Bentuk Sel Bakteri dan Endospora Isolat Bakteri Termofilik	30
Gambar 4.3. Elektroforegram Hasil Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik (Agarosa 1%).....	32
Gambar 4.4. Elektroforegram Produk DNA Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA	34
Gambar 4.5. Pohon filogenetik Isolat Bakteri Termofilik Berdasarkan Analisis <i>Neighbor-Joining</i>	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengukuran Parameter Lingkungan pada saat <i>Sampling</i>	74
Lampiran 2. Morfologi Koloni Bakteri	75
Lampiran 3. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu.....	76
Lampiran 4. Hasil <i>Alignment</i> Sekuens Isolat Bakteri Termofilik	78
Lampiran 5. Hasil Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA Genom Isolat Bakteri Termofilik.....	81
Lampiran 6. Komposisi Gel Agarosa dan Buffer TBE 1x	82

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menjadi satu di antara beberapa negara yang memiliki sumber daya panas bumi paling banyak di dunia yang tersebar di sekitar 252 lokasi di 26 provinsi (Suddin *et al.* 2019). Sumber air panas menjadi salah satu habitat potensial bagi mikroorganisme yang bersifat termofil, yaitu mikroorganisme yang mampu hidup pada suhu tinggi. Keberadaan sumber air panas ini turut mendukung keberadaan dan diversitas bakteri termofilik. Keberadaan bakteri termofilik sering kali berhubungan dengan proses biogeokimia, serta potensi besar dalam berbagai bidang, mulai dari penelitian ilmiah, aplikasi industri, hingga pengembangan teknologi (Samal, 2021).

Bakteri termofilik termasuk jenis bakteri yang memiliki karakteristik unik dibandingkan dengan jenis bakteri lainnya. Bakteri termofilik secara optimal tumbuh pada suhu di atas 45°C, dengan rentang suhu pertumbuhan umum antara 45°C hingga 80°C. Keberadaan bakteri termofilik telah menarik perhatian banyak ilmuwan karena potensinya dalam bidang bioteknologi. Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim termostabil dan mempunyai aktivitas optimum pada temperatur yang tinggi (Noer, 2021). Bakteri yang tahan panas dapat memberikan keuntungan yaitu menghindarkan terjadinya denaturasi atau kerusakan sel, karena bakteri termofilik memiliki protein yang tahan panas serta bersifat stabil pada kondisi suhu yang tinggi (Nazir *et al.*, 2019).

Analisis keanekaragaman genetik bakteri termofilik penting untuk memahami variasi spesies dan potensi fungsional yang dimiliki oleh bakteri. Salah satu pendekatan yang umum digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan bakteri adalah analisis genetik berbasis DNA, khususnya menggunakan gen 16S rRNA (Fuks *et al.*, 2018). Gen 16S rRNA sebagai marka taksonomi yang memungkinkan identifikasi dan klasifikasi spesies mikroba secara lebih efektif. Analisis gen penyandi 16S rRNA untuk penanda molekuler karena bersifat lestari serta universal dengan fungsi yang identik pada semua bakteri. Gen 16S rRNA yang terdapat pada semua bakteri sangat berguna dalam taksonomi mikroba karena memiliki wilayah konservatif yang digunakan untuk identifikasi spesies, serta wilayah variabel yang memungkinkan untuk membedakan antar spesies (Bukin *et al.*, 2019).

Penggunaan gen 16S rRNA untuk analisis keanekaragaman genetik memberikan wawasan yang mendalam mengenai keanekaragaman mikroba yang ada dalam suatu habitat panas. Dengan menganalisis urutan gen 16S rRNA, peneliti dapat mengidentifikasi spesies bakteri yang ada, menganalisis hubungan filogenetik antar spesies, serta memahami adaptasi genetik yang memungkinkan bakteri-bakteri ini bertahan dalam kondisi suhu ekstrem. Selain itu, pendekatan ini memungkinkan deteksi spesies baru yang mungkin belum teridentifikasi sebelumnya melalui metode kultur konvensional (Lingga *et al.*, 2021).

Metode sekuensing genetik dan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk amplifikasi gen 16S rRNA telah mempermudah isolasi dan identifikasi bakteri termofilik, bahkan dari sampel lingkungan yang sangat kompleks.

Berbagai studi telah menunjukkan bahwa bakteri termofilik memiliki keanekaragaman genetik yang tinggi, yang mencerminkan kemampuan mereka untuk beradaptasi dengan lingkungan yang ekstrem, seperti suhu tinggi, pH yang sangat asam atau basa, dan tekanan yang tinggi. Dengan keanekaragaman genetik yang tinggi, bakteri termofilik memiliki potensi yang besar dalam berbagai bidang bioteknologi, seperti produksi enzim industri yang stabil terhadap suhu tinggi, pembersihan limbah, dan produksi bioenergi (Chen dan Jiang, 2018).

Penelitian tentang keanekaragaman genetik bakteri termofilik sudah banyak dilakukan, seperti penelitian oleh Yohandini *et al.* (2015) yang telah berhasil mengisolasi dan menganalisis keanekaragaman genetik bakteri termofilik dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti, Kabupaten Lahat menggunakan gen 16S rRNA dari bakteri *Anoxybacillus rupiensis*, *Anoxybacillus flavithermus*, *Geobacillus pallidus*, *Brevibacillus thermoruber*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus thermoamylovorans*.

Berdasarkan penelitian Fachrial *et al.* (2021) yang mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri termofilik dari sumber air panas Dolok Tinggi Raja, Kecamatan Silau Kahean, Kabupaten Simalungun menunjukkan hasil analisis sekuensing Gen 16S rRNA yang diperoleh dibandingkan dengan sekuens yang ada di GenBank, menunjukkan bahwa isolat UTMTR VAR A10 mempunyai kemiripan tertinggi sebesar 99,78% dengan *Bacillus licheniformis* strain MPF 22. Selain itu, penelitian oleh Budiharjo *et al.* (2024) juga berhasil mengidentifikasi bakteri termofilik dari sampel sedimen sumber air panas Nglimut di Gonoharjo, Kabupaten Kendal yang menunjukkan bahwa

TS-14 berkerabat dengan *Bacillus amyloliquefaciens* dengan nilai *bootstrap* sebesar 79% dan isolat TS-15 memiliki nilai *bootstrap* sebesar 100% dengan *Bacillus licheniformis*.

Air Putih merupakan daerah di Bengkulu yang memiliki sumber air panas. Air Putih memiliki perpaduan sumber air panas dan dingin yang mengalir dalam satu aliran sungai. Keberadaan sumber air panas ini didukung oleh aktivitas geotermal, yang menciptakan lingkungan yang kaya akan unsur mineral dan dengan suhu yang cukup tinggi. Fitur seperti perbedaan suhu antara air panas dan air dingin dalam satu aliran sungai, serta faktor-faktor lingkungan ekstrem seperti pH, konsentrasi garam, dan komposisi mineral, memberikan dasar yang sangat menarik untuk dilakukan penelitian, khususnya dalam hal keanekaragaman spesies mikroorganisme termofilik (Suddin *et al.* 2019).

Sumber air panas di daerah Air Putih memiliki potensi besar untuk dilakukan penelitian ilmiah, terutama dalam mengidentifikasi bakteri dengan sifat unik yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri. Pengetahuan mengenai keanekaragaman genetik bakteri termofilik penting untuk konservasi sumber daya genetik dan mampu menyediakan suatu informasi dasar dalam aplikasi pengembangan bioteknologi (Abdollahi *et al.* 2021). Sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu belum dieksplorasi dari karakteristik mikrobiologi dan molekulernya. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat lokal bakteri termofilik dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu, serta karakterisasi isolat dengan pendekatan biologi molekuler berbasis gen 16S rRNA untuk mengetahui jenis masing-masing isolat tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian mengenai keanekaragaman genetik bakteri termofilik dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu belum dilakukan, sehingga perlu dilakukan isolasi bakteri termofilik dan analisis keanekaragaman genetik serta hubungan kekerabatannya untuk menambah informasi mengenai identifikasi spesies bakteri termofilik dengan kemampuan metabolit yang unik. Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini meliputi :

1. Bagaimana tingkat keanekaragaman genetik bakteri termofilik yang ditemukan di sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu berdasarkan urutan gen 16S rRNA?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan antar bakteri termofilik yang teridentifikasi dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu berdasarkan analisis pohon filogenetik?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Menganalisis tingkat keanekaragaman genetik bakteri termofilik yang ditemukan di sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu berdasarkan urutan gen 16S rRNA.
2. Menentukan hubungan kekerabatan antar bakteri termofilik yang teridentifikasi dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu berdasarkan analisis pohon filogenetik.

1.4 Manfaat Penelitian

Isolat bakteri termofilik yang diperoleh dan diidentifikasi pada penelitian ini dimaksudkan untuk melengkapi koleksi kultur mikroba yang dapat digunakan sebagai sumber enzim termostabil serta metabolit sekunder. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan suatu informasi tentang keanekaragaman genetik dan spesies bakteri termofilik berdasarkan wilayah 16S rRNA yang ada di sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Mawgood, A. L. (2012). *DNA Based Techniques for Studying Genetic Diversity*. In (Ed.), *Genetic Diversity in Microorganisms*. IntechOpen. DOI: <https://doi.org/10.5772/33509>.
- Abdollahi, P., Ghane, M., and Babaeekhou, L. (2021). Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Gavmesh Goli Hot Spring in Sabalan Geothermal Field, Iran: *Thermomonas hydrothermalis* and *Bacillus altitudinis* Isolates as a Potential Source of Thermostable Protease. *Geomicrobiology Journal*. 38(1): 87-95.
- Abellan-Schneyder, I., Matchado, M. S., Reitmeier, S., Sommer, A., Sewald, Z., Baumbach, J., and Neuhaus, K. (2021). Primer, Pipelines, Parameters: Issues In 16S rRNA Gene Sequencing. *Mosphere*. 6(1): 10-1128.
- Achtman, M. dan Wagner, M. (2008). Microbial Diversity and the Genetic Nature of Microbial Species. *Nature reviews microbiology*. 6(6): 431-440.
- Amann, R. I., Ludwig, W., and Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells Without Cultivation. *Microbiological Reviews*. 59(1): 143-169.
- Angio, N. A. M., Abdul, A., Kumaji, S. S., Uno, W. D., Retnowati, Y., and Jannah, M. (2024). Analysis of Amylase Activity in Bacteria Isolated from Hot Spring of Pentadio Resort. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus (JPBN)*. 10(1): 266-275.
- Aprilyanto, V. dan L. Sembiring. (2016). *Filogenetika Molekuler: Teori dan Aplikasi*. Yogyakarta: Innosain.
- Ardhi, A., Sidauruk, A. N., Suraya, N., Pratiwi, N. W., and Pato, U. (2020). Molecular Identification of Amylase-Producing Thermophilic Bacteria Isolated from Bukit Gadang Hot Spring, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(3): 994-1000.
- Azadian, F., Badoei-Dalfard, A., Namaki-Shoushtari, A., Karami, Z., and Hassanshahian, M. (2017). Production and Characterization of an Acido-Thermophilic, Organic Solvent Stable Cellulase from *Bacillus sonorensis* HSC7 by Conversion of Lignocellulosic Wastes. *Journal of genetic engineering and biotechnology*. 15(1): 187-196.
- Bain, S. A., Barker, D., and Attwood, T. K. (2020). *Bioinformatics: Food Detective-A Practical Guide*. *F1000Research*. 9.

- Baxevanis, A. D., Bader, G. D., and Wishart, D. S. (Eds.). (2020). *Bioinformatics*. John Wiley and Sons.
- Bergstrom, D. E. (2001). *Haplotype*. In S Brenner and J. H. Miller (Eds). *Encyclopedia of Genetics*. (pp 911-912).
- Beskrovnnaya, P., Sexton, D. L., Golmohammadzadeh, M., Hashimi, A., and Tocheva, E. I. (2021). Structural, Metabolic and Evolutionary Comparison of Bacterial Endospore and Exospore Formation. *Frontiers in microbiology*. 12: 630573.
- Borovska, P. and Gancheva, V. (2018). Parallelization and Optimization of Multiple Biological Sequence Alignment Software Based on Social Behavior Model. *International Journal of Computers*. 3: 69-74.
- Brown, A. dan Heidi S. (2015). *Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology Thirteenth Edition*. New York: McGraw-Hill Education. 481 hlm.
- Budiharjo, A., Wulandari, D., Shabrina, J., Mawarni, R. A., Maulana, A. R., Nurhayati, N., Wijanarka, W., Hartajanie, L., and Lindayani, L. (2024). Bioprospecting and Molecular Identification of Amylase and Cellulase Producing Thermophilic Bacteria from Sediment of Nglimut Hot Springs, Kendal Regency. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 9(3): 1-13.
- Bukin, Y. S., Galachyants, Y. P., Morozov, I. V., Bukin, S. V., Zakharenko, A. S., dan Zemskaya, T. I. (2019). The Effect of 16S rRNA Region Choice on Bacterial Community Meta Results. *Scientific Data*. 6(1): 1-14.
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., and Alland, D. (2007). A Detailed Analysis of 16S Ribosomal RNA Gene Segments for the Diagnosis of Pathogenic Bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. 69(2): 330-339.
- Chang, J. M., Evan, W. F. and Javier, H. (2021). Incorporating Alignment Uncertainty into Felsenstein's Phylogenetic Bootstrap to Improve its Reliability. *Bioinformatics*. 37(11): 1506-1514.
- Chen, G. Q. and Jiang, X. R. (2018). Next Generation Industrial Biotechnology Based on Extremophilic Bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 50: 94-100.
- Chen, Z., Hui, P. C., Hui, M., Yeoh, Y. K., Wong, P. Y., Chan, M. C., and Chan, P. K. (2019). Impact of Preservation Method and 16S rRNA Hypervariable Region on Gut Microbiota Profiling. *Msystems*. 4(1): e00271-18.

- Clarridge III, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17(4): 840-862.
- Crossley, B. M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., Porter, E., Killian, M. L., and Toohey-Kurth, K. (2020). Guidelines for Sanger Sequencing and Molecular Assay Monitoring. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 32(6): 767-775.
- Desiliyarni, T., Suwanto, A., Suhartono, M. T., and Purwadaria, T. (1999). Genetic Diversity Analysis of Thermophilic Bacteria from Candradimuka Crater in Central Java Employing PCR-RFLP of 16S-rRNA Gene. *BIOTROPIA-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*. (14): 1-9.
- Dharmayanti, I. (2011). Filogenetik Molekuler Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Evolusi. *Waetozoa*. 21(1): 1-10.
- El-Gayar, K. E., Al Abboud, M. A., and Essa, A. M. (2017). Characterization of Thermophilic Bacteria Isolated from Two Hot Springs in Jazan, Saudi Arabia. *Journal of Pure & Applied Microbiology*. 11(2): 743-752.
- Fachrial, E., Krisdianilo, V., Harmileni, H., Lister, I. N. E., Nugroho, T. T., and Saryono, S. (2021). Isolation, Characterization, Activity Test and Molecular Identification of Thermophilic Bacteria Producing Proteases from Dolok Tinggi Raja Natural Hot Springs, North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 22(4): 1725-1732.
- Fachrial, E., Rizky, V. A., Harmileni, H., Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Nugroho, T. T., and Saryono, S. (2021). Isolation, Molecular Identification and Enzyme Activity of Amylase Producing Thermophilic Bacteria from Hot Springs. *ITEGAM-JETIA*. 7(30): 62-68.
- Fatmaningtyas, T., Dominggas, M. H., Renwarin, dan Matheus B. (2016). Analisis Kelayakan Sumber Air Panas sebagai Obyek Wisata Alam di Kabupaten Manokwari Selatan. *Jurnal Kesehatan Papuaasia*. 2(2): 1-17.
- Felske, A., A. Wolterink, R. Van Lis. and A.D.L. Akkermans. (1998). Phylogeny of the Main Bacterial 16S rRNA Sequences in Drentse A Grassland Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(3): 871-879.
- Feng, Y. F., Zhang, X. X., Zhang, B., Liu, J. T., Wang, Y. G., Jia, D. L., Kong, Z. Fincan, S. A., Enez, B., Özdemir, S., and Bekler, F. M. (2014). Purification and Characterization of Thermostable α -Amylase from Thermophilic *Anoxybacillus flavithermus*. *Carbohydrate polymers*. 102: 144-150.

- Friedman, S. M. (1992). Thermophilic Microorganisms. *Encyclop.* (Vol. 4). Academic Press, Inc.
- Fuks, G., Elgart, M., Amir, A., Zeisel, A., Turnbaugh, P. J., Soen, Y., and Shental, N. (2018). Combining 16S rRNA Gene Variable Regions Enables High-Resolution Microbial Community Profiling. *Microbiome*. 6(1): 1-13.
- Furukawa, R., Toma, W., Yamazaki, K., and Akanuma, S. (2020). Ancestral Sequence Reconstruction Produces Thermally Stable Enzymes with Mesophilic Enzyme-like Catalytic Properties. *Scientific reports*. 10(1): 1-13.
- Glick, B. R., Pasternak, J. J., and Patten, C. L. (2010). *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. (4 ed.). Washington, DC: ASM Press. Hlm. 117-118.
- Goldman, E. and Green, L. H. (Eds.). (2015). *Practical Handbook of Microbiology*. CRC press.
- Green, M. R. and Sambrook, J. (2019). Analysis of DNA by Agarose Gel Electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2019(1): pdb-top100388.
- Gulmus, E. dan Gormez, A. (2020). Identification and Characterization of Novel Thermophilic Bacteria From Hot Springs, Erzurum, Turkey. *Current Microbiology*. 77(6): 979-987.
- Haddar, A., Sellami-Kamoun, A., Fakhfakh-Zouari, N., Hmidet, N., and Nasri, M. (2010). Characterization of Detergent Stable and Feather Degrading Serine Proteases from *Bacillus mojavensis* A21. *Biochemical Engineering Journal*. 51(1-2): 53-63.
- Hussey, M. A. dan Zayaitz, A. (2007). Endospore Stain Protocol. *Am Soc Microbiol*. 8: 1-11.
- Ibal, J. C., Pham, H. Q., Park, C. E., and Shin, J. H. (2019). Information about variations in multiple copies of bacterial 16S rRNA genes may aid in species identification. *PLoS One*. 14(2): 1-15.
- Idris, A. B., Hassan, H. G., Ali, M. A. S., Eltaher, S. M., Idris, L. B., Altayb, H. N., and Hassan, M. A. (2020). Molecular Phylogenetic Analysis of 16S rRNA Sequences Identified Two Lineages of *Helicobacter Pylori* Strains Detected from Different Regions in Sudan Suggestive of Differential Evolution. *International Journal of Microbiology*.
- Ifandi, S. and Alwi, M. (2018). Isolation of Thermophilic Bacteria from Bora Hot Springs in Central Sulawesi. *Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education*. 10(2): 291-297.

- Irena, A. (2010). *Isolasi dan Optimasi Protease Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Tangkuban Perahu Bandung* [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Irfan, M., Tayyab, A., Hasan, F., Khan, S., Badshah, M., and Shah, A. A. (2017). Production and Characterization of Organic Solvent-Tolerant Cellulase from *Bacillus amyloliquefaciens* AK9 Isolated from Hot Spring. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 182: 1390-1402.
- Jeong, D. W., Lee, B., Lee, H., Jeong, K., Jang, M., & Lee, J. H. (2018). Urease Characteristics and Phylogenetic Status of *Bacillus paralicheniformis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28(12): 1992-1998.
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., and Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA Gene Sequencing for Species and Strain-Level Microbiome Analysis. *Nature Communications*. 10(1): 5029.
- Kasi, P. D. (2020). Karakterisasi Morfologis Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Pincara. *Indigenous Biologi: Jurnal Pendidikan dan Sains Biologi*. 3(2): 51-56.
- Kawasaki, Y., Aoki, M., Makino, Y., Sakai, H., Tsuboi, Y., Ueda, J., Sonoda, K., Watanabe, K., Yamamoto, S., and Kurosawa, N. (2011). Characterization of moderately thermophilic bacteria isolated from saline hot spring in Japan. *Microbiology Indonesia*. 5(2): 56-60.
- Kekre, M. and Pascoe, B. (2023). *C-SOP-202: Genomic DNA Purity Measurement using a Nanodrop Spectrophotometer*. <https://protocols.io/view/csop-202-genomic-dna-purity-measurement-using-a-nc4kjyuun>.
- Khasa, Y. P. and Mohanty, S. (2021). Growth Physiology and Kinetics. In *Fundamentals of Bacterial Physiology and Metabolism* (pp. 137-179). Springer, Singapore.
- Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A., Palladion, M.A., and Killian, D.J. (2018). *Concepts of Genetics Twelfth Edition*. Hoboken, New Jersey: Pearson Education.
- Kurniawan, H. M. (2017). Isolasi dan Optimasi Ekstrinsik Bakteri Termoproteolitik Isolat Sumber Air Panas Semurup, Kab. Kerinci, Jambi. *Scientia Journal*. 6(1): 62-68.
- Kusumaningsih, P. dan Gede, I. M. (2020). Analisis filogenetik Bakteri *Serratia* sp. dan *Kurthia* sp. pada Pindang Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Seminar Nasional Bioteknologi Universitas Dhyana Pura*. 64-69.

- Land, M., Hauser, L., Jun, S. R., Nookaew, I., Leuze, M. R., Ahn, T. H., and Ussery, D. W. (2015). Insights from 20 Years of Bacterial Genome Sequencing. *Functional and Integrative Genomics*. 15: 141-161.
- Librado, S. P., Rozas, L. J. A., Sánchez del Barrio, J. C., Messeguer Peypoch, X., and Rozas, R. (2010). *DnaSP Version 5. DNA Sequence Polymorphism*.
- Lingga, R., Budi, A., Reti, S., dan Ina, M. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asal Sumber Air Panas Non-Vulkanik. *Bioedusains: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*. 4(2): 175-184.
- Listiani, L., Dhanti, K. R., Kurniawan, K., and Widodo, O. S. Y. (2023). Optimization Annealing Temperature Gene blaZ of Bacterial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Medical Equipment. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*. 6(1): 420-425.
- Lopez, M. J., Guisado, G., Vargas-Garcia, M. C., Suárez-Estrella, F., dan Moreno, Muharni, Juswardi, dan Prihandayani, I. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Protease dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Lucena-Aguilar, G., Sánchez-López, A. M., Barberán-Aceituno, C., Carrillo-Avila, J. A., López-Guerrero, J. A., and Aguilar-Quesada, R. (2016). DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation and Biobanking*. 14(4): 264-270.
- Ludwig, W. and Klenk, H. P. (2005). Overview: A Phylogenetic Backbone and Taxonomic Framework for Prokaryotic Systematic. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 49-65.
- Madigan, T., Bender, K. S., Buckley, D., Sattley, W., and Stahl, D. (2018). *Brock Microorganisms 15th Global Edition* (15th ed.). Pearson.
- Mageshwaran, V., Singh, U. B., Saxena, A. K., and Singh, H. B. (Eds.). (2024). *Applications of Bacillus and Bacillus Derived Genera in Agriculture, Biotechnology and Beyond* (Vol. 51). Springer Nature.
- Mahestri, L., Harpeni, E., dan Setyawan, A. (2021). Isolasi dan Penapisan Bakteri Termofilik Pemecah Amilum dan Protein dari Sumber Air Panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan Isolation and Screening of Amylolytic and Proteolytic Thermophilic. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 26(3): 161-168.

- Mardiana, A., Dhanti, K. R., Kurniawan, K., and Sulistyowati, R. (2023). Optimization of Primary Concentration and *Annealing* Temperature in Detecting Blaz Gene in Airborne Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*. 6(1): 389-393.
- Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., and Kennes, C. (2017). Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolats as Potential Producers of Thermostable Enzymes. *International Journal of Microbiology*.
- Nafia, S. Z. I., Pujiyanto, S., dan Budiharjo, A. (2021). Isolasi, Skrining, dan Identifikasi Molekuler Bakteri Termotoleran Proteolitik dari Sumber Air Panas Nglimit Gonoharjo Kendal. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*. 24(1): 30-35.
- Nazir, R., Rehman, S., Nisa, M., and ali Baba, U. (2019). Exploring Bacterial Diversity: From Cell to Sequence. In *Freshwater Microbiology* (pp. 263-306). Academic Press.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press.
- Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri Secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*. 1(1): 1-6.
- Nuroniayah, T. dan Putra, S. R. (2012). Identifikasi Spesies Isolat Bakteri S1 dengan Metode Analisa Sekuen Fragmen Gen 16S rDNA. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-6.
- Ochman, H. and Caro-Quintero, A. (2016). *Encyclopedia of Evolutionary Biology || Genome Size and Structure, Bacterial*. 179-185. DOI: <https://doi:10.1016/b978-0-12-800049-6.00235-3>.
- Osawa, S., Su, Z. H. dan Imura, Y. (2004). Molecular Phylogeny and Evolution of Carabid Ground Beetles. *Springer Science and Business Media*.
- Pangastuti, A. (2006). Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Biodiversitas*. 7(3): 292-296.
- Rachmawati, E., Asarina, S., Kennardi, G. B., Safitri, R., Subroto, T., and Maskoen, A. M. (2023). Antimicrobial Peptide Coding Gene of Thermophilic Bacteria Isolated from Crater Hot Spring in Mountains Around West Java. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 11(2): 220-225.

- Rahman, M. T., Uddin, M. S., Sultana, R., Moue, A., and Setu, M. (2013). *Polymerase Chain Reaction (PCR): a Short Review. Anwer Khan Modern Medical College Journal*. 4(1): 30-36.
- Raiyani, N. M., George, J. J., Herma, T. H., and Singh, S. P. (2020). Designing and Evaluation of Metagenomics 16S rRNA Gene Primers. *In Proceedings of the National Conference on Innovations in Biological Sciences (NCIBS)*.
- Raja, A. M. and Kumar, M. (2017). Diversity of Thermophilic Bacteria from Hot Springs in India: A review. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 4(1): 22-30.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sanchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., and Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular biology and evolution*. 34(12): 3299-3302.
- Safitri, R., Kusumawardhani, D. P., Annisa, A., Partasmita, R., Asharina, S., dan Maskoen, A. M. (2020). Characterization and Identification of Three Thermophilic *Bacillus* Strain Isolated from Domas Crater, Mt. Tangkuban Perahu, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(8): 3444-3453.
- Samal, K. C., Sahoo, J. P., Behera, L., and Dash, T. (2021). Understanding the BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) Program and a Step-by-step Guide for its use in Life Science Research. *Quarterly Research Journal of Plant & Animal Sciences/Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*. 36(1): 55-61.
- Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Ostell, J., Pruitt, K. D., dan Karsch-Mizrachi, I. (2020). GenBank. *Nucleic acids research*, 48(D1), D84-D86.
- Shahi, S. K., Freedman, S. N., and Mangalam, A. K. (2017). Gut Microbiome in Multiple Sclerosis: The Players Involved and the Roles they Play. *Gut microbes*. 8(6): 607-615.
- Shahi, S. K., Zarei, K., Guseva, N. V., and Mangalam, A. K. (2019). Microbiota Analysis using Two-step PCR and Next-Generation 16S rRNA Gene Sequencing. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. (152): 10-3791.
- Sjafaraenan, S., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., and Sabran, A. (2018). Profil DNA Gen Follicle Stimulating Hormone Reseptor (FSHR) pada Wanita Akne dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*. 3(1): 1-11.

- Soeka, Y. S., Rahayu, S. H., Setianingrum, N., dan Naiola, E. (2011). Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik. *Artikel. Media Litbang Kesehatan*. 21(2): 1-7.
- Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., dan Lynch, S. V. (2015). Use of 16S rRNA Gene for Identification of Broad Range of Clinically Relevant Bacterial Pathogens. *PloS one*. 10(2): e0117617.
- Stumpf, M. P. (2004). Haplotype Diversity and SNP Frequency Dependence in the Description of Genetic Variation. *European journal of human genetics*. 12(6): 469-477.
- Suddin, S., Mokosuli, Y. S., Marcelina, W., Orbanus, N., and Ardi, K. (2019). Molecular Barcoding Based 16S rRNA Gene of Thermophilic Bacteria from Vulcanic Sites, Linow Lake, Tomohon. In *Materials Science Forum*. 967: 83-92. Trans Tech Publications Ltd.
- Takahashi, T. and Koike, T. (2012). Phylogenetic Diversity of Thermophilic Bacteria in Geothermal Hot Springs. *Microbial Ecology*. 63(1): 212-220.
- Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 38(7): 3022- 3027.
- Tindall, B. J. and Glaeser, S. P. (2013). The Role of 16S rRNA Gene Sequence Analysis in the Taxonomy of Prokaryotes. *Nature Reviews Microbiology*. 11(1): 6-8.
- Tringe, S. G. and Hugenholtz, P. (2008). A Renaissance for the Pioneering 16S rRNA Gene. *Current Opinion Microbiology*. 11(5): 442-6.
- Tuntun, M. dan Huda, M. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 3(1): 297-304.
- Urry, L. A., Cain, M. L., Wassermann, S. A., Minorsky, P. V., and Orr, R. B. (2020). *Campbell Biology Twelfth Edition*. (Twelfth Edition.). Pearson.
- Wahyudi, A.T., Astuti, R.I., dan Priyanto, J.A. (2021). *Metode Eksperimen dalam Genetika Bakteri*. Bogor: IPB Press.
- Wang, Y. and Qian P-Y. (2009). Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. *PLoS One*. 4(10):7401.

- Webster, G., Newberry, C. J., Fry, J. C., and Weightman, A. J. (2003). Assessment of Bacterial Community Structure in the Deep Sub-seafloor Biosphere by 16S rDNA-based Techniques: A Cautionary Tale. *Journal of Microbiological Methods*. 55(1): 155-164.
- Westermeier, R. (2016). *Electrophoresis in Practice: A Guide to Methods and Applications of DNA and Protein Separations*. John Wiley & Sons.
- Yang, B., Wang, Y., and Qian, P. Y. (2016). Sensitivity and Correlation of Hypervariable Regions in 16S rRNA Genes in Phylogenetic Analysis. *BMC Bioinformatics*. 17(1): 1-8.
- Yohandini, H., Julinar, and Muharni. (2015). Isolation and Phylogenetic Analysis of Thermophile Community Within Tanjung Saki Hot Spring, South Sumatera, Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*. 22(1): 143-148.
- Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., dan Narayan, I. (2018). Teknik Perancangan Primer untuk Sekuen Gen MDR-1 Varian 1199 pada Sampel *Buffy Coat* pasien Anak dengan LLA. *Jurnal Metamorfosa* V. 105-111.