

EKSPLORASI KOMUNITAS BAKTERI TANAH PADA DAERAH TERCEMAR BESI DI KAWASAN TAMAN, SIDOARJO

Fara Salsa Refalina Sidarta¹, Nafilah Zerlita Fahrani², Azzam Muhammad Ilham³, Dinda Anggraini Putri⁴, Nurisnaini Dhikrilla⁵

*Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya*

Jalan Ketintang, Surabaya, Indonesia 60231

farasalsar17@gmail.com

ABSTRAK

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang banyak digunakan dalam analisis molekuler, termasuk untuk mengidentifikasi komunitas mikroorganisme pada sampel lingkungan. Penelitian ini bertujuan mengisolasi DNA total dari tanah tercemar besi di kawasan Taman, Sidoarjo, serta mengamplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal 27F dan 1492R sebagai tahap awal eksplorasi komunitas bakteri. Sampel tanah diambil dari tiga titik pada area tercemar besi di halaman pabrik besi PT Ispatindo, kemudian DNA diisolasi menggunakan ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit, diamplifikasi dengan PCR, dan divisualisasikan melalui elektroforesis gel agarosa 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA total berhasil diisolasi dari seluruh sampel, sedangkan amplifikasi gen 16S rRNA menghasilkan pita DNA yang masih tipis sehingga menunjukkan bahwa proses amplifikasi belum berlangsung secara optimal. Rendahnya intensitas pita diduga dipengaruhi oleh kemurnian DNA template, keberadaan senyawa penghambat (*PCR inhibitors*), maupun kondisi PCR yang masih memerlukan optimasi. Penelitian ini menunjukkan bahwa isolasi DNA dan amplifikasi gen 16S rRNA dari tanah tercemar besi berhasil dilakukan sebagai langkah awal eksplorasi komunitas bakteri. Namun, identifikasi taksonomi dan analisis keanekaragaman bakteri memerlukan penelitian lanjutan melalui sekuensing gen 16S rRNA.

Kata kunci: amplifikasi PCR, ekstraksi DNA, gen 16S rRNA, tanah tercemar besi.

ABSTRACT

Polymerase Chain Reaction (PCR) is an *in vitro* DNA amplification technique widely used in molecular analysis, including for identifying microbial communities in environmental samples. This study aimed to isolate total DNA from iron-contaminated soil in the Taman area, Sidoarjo, and amplify the 16S rRNA gene using universal primers 27F and 1492R as the initial stage of

Article History

Received: Juli 2026

Reviewed: Juli 2026

Published: Juli 2026

Plagiarism Checker:

No 234.GT8.,35

.800

Copyright : Author

Publishby : Trigonometri



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

bacterial community exploration. Soil samples were taken from three points in the iron-contaminated area in the yard of the PT Ispatindo iron factory, then DNA was isolated using the ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit, amplified by PCR, and visualized by 2% agarose gel electrophoresis. The results showed that total DNA was successfully isolated from all samples, while 16S rRNA gene amplification produced a thin DNA band, indicating that the amplification process was not optimal. The low band intensity is thought to be influenced by the purity of the DNA template, the presence of inhibitors (PCR inhibitors), and the PCR conditions that still require optimization. This study demonstrates that DNA isolation and 16S rRNA gene amplification from iron-contaminated soil are successful initial steps in exploring bacterial communities. However, taxonomic identification and bacterial diversity analysis require further research through 16S rRNA gene sequencing.

Keywords: *PCR amplification, DNA extraction, 16S rRNA gene, iron-contaminated soil.*

PENDAHULUAN

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang dikembangkan oleh Kary Mullis pada pertengahan tahun 1980-an dan hingga kini menjadi salah satu metode utama dalam biologi molekuler untuk memperbanyak fragmen DNA secara spesifik. Teknik ini mampu menghasilkan jutaan salinan DNA target dalam waktu relatif singkat sehingga banyak dimanfaatkan dalam penelitian genetika, diagnosis penyakit, identifikasi mikroorganisme, forensik, hingga analisis keanekaragaman hayati (Mullis & Faloona, 1987). Salah satu aplikasi penting PCR di bidang mikrobiologi lingkungan adalah amplifikasi gen 16S rRNA, yaitu gen yang memiliki daerah konservatif dan daerah variabel sehingga banyak digunakan sebagai penanda molekuler untuk identifikasi dan analisis filogenetik bakteri (Janda & Abbott, 2007). Pada sampel lingkungan, seperti tanah, PCR memungkinkan identifikasi komunitas bakteri tanpa bergantung pada metode kultur, sehingga dapat mendeteksi mikroorganisme yang sulit atau bahkan tidak dapat dikultur di laboratorium (Steffan *et al.*, 1988).

anah merupakan ekosistem kompleks yang menjadi habitat berbagai mikroorganisme, terutama bakteri, yang berperan penting dalam dekomposisi bahan organik, siklus unsur hara, serta menjaga keseimbangan ekosistem melalui berbagai proses biogeokimia (Mautuka *et al.*, 2022). Namun, aktivitas industri dapat meningkatkan akumulasi logam berat di dalam tanah sehingga mengubah sifat fisik, kimia, maupun biologinya. Besi (Fe) merupakan unsur esensial bagi

mikroorganisme, tetapi pada konsentrasi tinggi dapat bersifat toksik karena memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), menghambat aktivitas enzim, serta menyebabkan perubahan struktur komunitas mikroba tanah. Akibatnya, hanya mikroorganisme yang memiliki mekanisme adaptasi atau resistensi terhadap logam berat yang mampu bertahan pada kondisi tersebut (Bruins *et al.*, 2000; Gadd, 2010).

Karakterisasi komunitas bakteri pada tanah tercemar logam berat menjadi penting karena dapat memberikan informasi mengenai mikroorganisme yang berpotensi dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi. Salah satu pendekatan yang banyak digunakan adalah isolasi DNA total dari sampel tanah, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal 27F dan 1492R. Primer tersebut mampu mengamplifikasi hampir seluruh panjang gen 16S rRNA sehingga menghasilkan informasi yang lebih lengkap untuk analisis taksonomi bakteri dibandingkan amplifikasi fragmen yang lebih pendek (Lane, 1991). Meskipun demikian, ekstraksi DNA dari tanah masih menghadapi berbagai kendala, seperti keberadaan asam humat, polisakarida, dan ion logam yang dapat menghambat reaksi PCR sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pemurnian DNA yang efektif (Schrader *et al.*, 2012).

Informasi mengenai komunitas bakteri pada tanah tercemar besi di kawasan industri Indonesia masih relatif terbatas, khususnya pada kawasan industri Taman, Sidoarjo. Padahal, data mengenai keberadaan komunitas bakteri lokal sangat penting sebagai dasar pengembangan teknologi bioremediasi berbasis mikroorganisme indigenous yang lebih adaptif terhadap kondisi lingkungan setempat. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisolasi DNA total dari tanah tercemar besi di kawasan Taman, Sidoarjo, serta mengamplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal 27F dan 1492R sebagai tahap awal eksplorasi komunitas bakteri. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar bagi penelitian lanjutan melalui sekuensing gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi keanekaragaman bakteri serta mengevaluasi potensi mikroorganisme lokal dalam mendukung rehabilitasi lingkungan tercemar logam berat.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2024. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada tanggal 13 Mei 2024 di area tercemar besi halaman pabrik besi PT Ispatindo, Kecamatan Taman, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Selanjutnya, proses isolasi DNA, amplifikasi PCR, dan elektroforesis gel agarosa dilakukan di Laboratorium Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Surabaya, Jawa Timur.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *grab sampler*, tabung lisis ZR BashingBead™, mikropipet (0,5-10 µL, 10-100 µL, dan 100-1000 µL), *microtip* (putih, kuning, dan biru), tabung PCR, *microtube* 1,5 mL, *bead beater/vortex mixer*, mikrosentrifus (*microcentrifuge*), *thermal cycler*, perangkat elektroforesis (*electrophoresis chamber*), *power supply*, *UV transilluminator*, mikrowave, serta peralatan gelas laboratorium.

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi sampel tanah tercemar besi, kit ekstraksi DNA ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (Zymo Research, USA), primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), primer 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'), PCR Master Mix, *nuclease-free water* (NFW), *DNA ladder*, *loading dye*, agarosa, larutan penyangga TAE 1×, dan etidium bromida (EtBr) sebagai pewarna DNA.

Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari area tercemar besi di halaman pabrik besi PT Ispatindo, Kecamatan Taman, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur, pada tanggal 13 Mei 2024. Pengambilan dilakukan pada tiga titik dengan jarak antartitik sekitar ±10 m menggunakan *grab sampler*. Sampel dari setiap titik dimasukkan ke dalam wadah plastik steril, diberi label, kemudian dibawa ke Laboratorium Molekuler FMIPA Universitas Negeri Surabaya dalam kondisi tertutup. Selanjutnya, sampel disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk proses isolasi DNA guna menjaga stabilitas dan mencegah degradasi DNA.

Isolasi DNA

Isolasi DNA total dilakukan menggunakan ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (Zymo Research, USA) sesuai dengan protokol pabrikan dengan sedikit modifikasi (Zymo Research, 2022). Sebanyak 250 mg sampel tanah dimasukkan ke dalam tabung lisis ZR BashingBead™ yang berisi campuran manik-manik berdiameter 0,1 mm dan 0,5 mm, kemudian ditambahkan 750 µL ZymoBIOMICS™ Lysis Solution. Proses lisis sel dilakukan secara mekanik menggunakan *bead beater*, kemudian campuran disentrifugasi untuk memisahkan debris sel dari supernatan yang mengandung DNA.

Supernatan selanjutnya dipurifikasi menggunakan Zymo-Spin™ III-F Filter, kemudian DNA diikat pada membran silika Zymo-Spin™ II-CR Column dengan penambahan DNA Binding Buffer. Kolom dicuci secara bertahap menggunakan DNA Wash Buffer 1 dan DNA Wash Buffer 2 untuk menghilangkan protein, garam, serta senyawa penghambat PCR yang masih tersisa. DNA kemudian dielusi menggunakan 100 µL DNase/RNase-free Water.

Sebagai tahap pemurnian lanjutan, eluat DNA dilewatkan melalui Zymo-Spin™ III-HRC *Filter* untuk mengurangi kontaminan, seperti asam humat dan senyawa inhibitor PCR yang umum terdapat pada sampel tanah. DNA hasil isolasi selanjutnya digunakan sebagai cetakan (*template*) pada proses amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan teknik PCR.

Amplifikasi PCR

Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan menggunakan primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). Reaksi PCR menggunakan PCR Master Mix dengan DNA hasil isolasi sebagai *template*, masing-masing primer, dan *nuclease-free water* hingga mencapai volume reaksi yang ditentukan. Amplifikasi dilakukan menggunakan *thermal cycler* dengan kondisi yang meliputi denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit, diikuti 30-35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 30 detik, ekstensi pada 72°C selama 90 detik, dan diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit. Produk PCR selanjutnya disimpan pada suhu 4°C hingga dilakukan analisis menggunakan elektroforesis gel agarosa (Lane, 1991; Janda & Abbott, 2007).

Elektroforesis Gel Agarose

Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2%. Gel dibuat dengan melarutkan agarosa dalam 50 mL larutan penyangga TAE 1×, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna. Setelah suhu larutan menurun, ditambahkan etidium bromida (EtBr) sebagai pewarna DNA, kemudian larutan dituangkan ke dalam cetakan gel dan dibiarkan memadat.

Setelah gel memadat, gel ditempatkan pada chamber elektroforesis yang berisi larutan TAE 1×. DNA *ladder* dimuat pada sumur pertama sebagai penanda ukuran fragmen DNA, sedangkan produk PCR dicampur dengan *loading dye* sebelum dimasukkan ke sumur berikutnya. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 V selama 30 menit. Selanjutnya, pita DNA divisualisasikan menggunakan UV transiluminator dan didokumentasikan untuk analisis hasil amplifikasi.

Analisis Data

Hasil elektroforesis gel agarosa dianalisis secara deskriptif dengan mengamati keberadaan, ukuran relatif, serta intensitas pita DNA yang dihasilkan. Ukuran fragmen DNA diperkirakan dengan membandingkan posisi pita sampel terhadap DNA *ladder* sebagai penanda ukuran molekuler. Kejelasan dan ketebalan pita DNA digunakan sebagai indikator keberhasilan isolasi DNA dan amplifikasi gen 16S rRNA. Hasil analisis pada penelitian ini bersifat kualitatif dan difokuskan pada evaluasi keberhasilan isolasi DNA serta amplifikasi PCR, sedangkan identifikasi taksonomi dan analisis keragaman komunitas bakteri tidak dilakukan karena memerlukan

tahapan lanjutan berupa sekuensing gen 16S rRNA dan analisis bioinformatika (Janda & Abbott, 2007; Green & Sambrook, 2019). Hasil visualisasi pita DNA selanjutnya digunakan untuk menentukan keberhasilan tahap isolasi DNA dan amplifikasi PCR sebagai dasar pelaksanaan analisis molekuler lanjutan melalui sekuensing gen 16S rRNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanah secara alami mengandung berbagai unsur logam, dengan unsur dominan berupa Si, Al, Fe, Ca, Na, K, dan Mg, yang keberadaannya berpengaruh besar terhadap sifat fisik dan kimia tanah (Khasanah, Mindari, & Suryaminarsih, 2021). Logam berat pada tanah umumnya berasal dari pelapukan batuan maupun aktivitas manusia, seperti penambangan dan pengolahan bahan yang mengandung logam berat, termasuk penambangan batu bara dan kromat pada batuan ultrabasa (Rasyid, Cools, & Mardiah, 2021). Kondisi inilah yang mendasari pemilihan lokasi tanah tercemar besi di kawasan pabrik besi Taman, Sidoarjo, sebagai objek eksplorasi komunitas bakteri pada penelitian ini.

Ekstraksi DNA dari sampel tanah dilakukan melalui kombinasi lisis mekanik (vortex) dan lisis kimiawi menggunakan kit ekstraksi berbasis kolom, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi PCR untuk memperoleh pita DNA yang dapat divisualisasikan. Metode isolasi DNA dari sampel lingkungan terus berkembang dan bervariasi tergantung karakteristik sampel yang digunakan. Pada tahap amplifikasi, digunakan primer universal 27F dan 1492R yang mencakup hampir seluruh gen 16S rRNA, sebagaimana digunakan pula oleh Heuer, Krsek, Baker, Smalla, dan Wellington (1997) dalam menganalisis komunitas mikroorganisme melalui amplifikasi gen penyandi 16S rRNA.

Amplifikasi dan ekstraksi DNA merupakan tahap dasar bagi seluruh analisis molekuler, termasuk untuk mempelajari mekanisme adaptasi mikroorganisme terhadap cekaman logam berat. Beberapa bakteri yang hidup pada lingkungan tercemar logam berat, baik pada limbah industri, perairan, maupun tanah, diketahui memiliki mekanisme resistensi yang terkait dengan gen pada kromosom, plasmid, maupun transposon, misalnya gen *cop*-operon untuk resistensi terhadap Cu, *cadA*-operon untuk logam Cd, dan *mer*-operon untuk resistensi terhadap Hg (Silver, 1996; Bruins, Kapil, & Oehme, 2000). Keberadaan mekanisme semacam ini pada bakteri tanah di lokasi penelitian belum dapat dipastikan tanpa data sekuensing lebih lanjut, namun kemungkinan tersebut menjadi salah satu alasan pentingnya eksplorasi komunitas bakteri pada tanah tercemar besi.

Tanah merupakan salah satu jenis sampel lingkungan yang memiliki tingkat kompleksitas tinggi untuk analisis molekuler karena mengandung berbagai senyawa penghambat (PCR inhibitors),

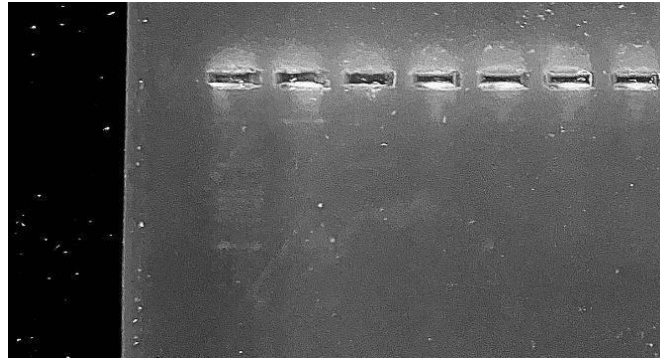
seperti asam humat, asam fulvat, polisakarida, dan ion logam yang dapat berikatan dengan DNA maupun enzim DNA polimerase. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut sering menyebabkan penurunan kualitas DNA hasil ekstraksi, sehingga efisiensi amplifikasi PCR menjadi rendah meskipun konsentrasi DNA relatif mencukupi. Oleh karena itu, penggunaan kit ekstraksi berbasis kolom silika dengan tahap pemurnian tambahan sebagaimana dilakukan pada penelitian ini bertujuan mengurangi keberadaan inhibitor tersebut sehingga DNA yang diperoleh lebih layak digunakan sebagai cetakan PCR. Meskipun demikian, masih tampaknya pita amplikon yang tipis menunjukkan bahwa proses pemurnian DNA kemungkinan belum sepenuhnya menghilangkan senyawa penghambat yang terdapat pada sampel tanah tercemar. Sitasi yang mendukung fenomena ini banyak dilaporkan pada penelitian mengenai ekstraksi DNA tanah dan mikrobiologi lingkungan (Schrader *et al.*, 2012; Steffan *et al.*, 1991).

Keberadaan logam besi dalam konsentrasi tinggi juga berpotensi memengaruhi struktur komunitas bakteri tanah melalui proses seleksi ekologis. Paparan logam berat secara terus-menerus umumnya menyebabkan penurunan keanekaragaman mikroba sensitif, sementara kelompok bakteri yang memiliki mekanisme resistensi akan lebih mampu bertahan dan mendominasi komunitas. Mekanisme tersebut meliputi pembentukan biofilm, pompa efluks (*efflux pump*), transformasi redoks logam, biosorpsi pada dinding sel, serta produksi senyawa pengkelat logam. Adaptasi tersebut memungkinkan bakteri tetap menjalankan aktivitas metabolisme meskipun berada pada lingkungan dengan tekanan logam berat yang tinggi (Bruins *et al.*, 2000; Gadd, 2010).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa DNA total berhasil diperoleh dan fragmen gen 16S rRNA masih dapat diamplifikasi dari tanah tercemar besi, meskipun intensitas pita PCR belum optimal. Temuan ini mengindikasikan bahwa komunitas bakteri masih mampu bertahan pada lingkungan tercemar besi sehingga berpotensi memiliki karakter adaptif terhadap cekaman logam. Akan tetapi, berdasarkan hasil elektroforesis saja belum dapat diketahui komposisi maupun keragaman komunitas bakteri yang terdapat pada sampel. Informasi tersebut hanya dapat diperoleh melalui analisis sekuensing gen 16S rRNA yang dilanjutkan dengan identifikasi taksonomi menggunakan basis data molekuler seperti SILVA atau NCBI GenBank. Pendekatan ini saat ini menjadi metode standar dalam karakterisasi komunitas mikroba lingkungan karena mampu mengidentifikasi bakteri yang tidak dapat dikultur secara konvensional (Johnson *et al.*, 2019).

Selain memberikan informasi mengenai komposisi komunitas mikroba, hasil sekuensing juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri yang berpotensi dimanfaatkan dalam proses bioremediasi tanah tercemar logam berat. Berbagai genus bakteri seperti *Bacillus*,

Pseudomonas, *Arthrobacter*, dan *Cupriavidus* telah banyak dilaporkan memiliki kemampuan mengimobilisasi maupun mentransformasi logam berat sehingga dapat menurunkan toksisitas lingkungan. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan tahap awal yang penting dalam pengembangan teknologi bioremediasi berbasis mikroorganisme lokal pada tanah tercemar besi di kawasan industri Taman, Sidoarjo (Gadd, 2010; Wang *et al.*, 2020).



Gambar 1. Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi primer 27F dan 1492R.

Keterangan:

Sumur 1 = *marker* (DNA ladder)

Sumur 2 = DNA total sampel tanah

Sumur 3 = hasil PCR sampel tanah

Berdasarkan **Gambar 1**, pita DNA divisualisasikan melalui perendaman gel dalam larutan etidium bromida yang berpendar di bawah sinar ultraviolet (UV). DNA total yang diisolasi dari 0,25 gram sampel tanah pada tiga titik pengambilan menghasilkan pita yang tampak jelas pada sumur 2, sedangkan sumur 1 berisi DNA ladder sebagai penanda ukuran fragmen DNA. Pita hasil amplifikasi PCR pada sumur 3 masih tampak tipis dan kurang jelas, sehingga menunjukkan bahwa proses amplifikasi belum berlangsung secara optimal. Munculnya pita DNA pada hasil PCR mengindikasikan bahwa DNA target gen 16S rRNA berhasil diamplifikasi, meskipun efisiensi amplifikasi masih rendah sehingga menghasilkan intensitas pita yang lemah.

Optimasi suhu denaturasi dan annealing dalam mesin PCR berperan penting terhadap keberhasilan amplifikasi. Suhu denaturasi yang terlalu rendah dapat menyebabkan untai ganda DNA belum terbuka sempurna sehingga primer tidak dapat berikatan dengan DNA target. Sebaliknya, suhu annealing yang terlalu tinggi dapat menghambat penempelan primer pada cetakan DNA, sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan primer berikatan secara nonspesifik pada daerah genom lain yang memiliki tingkat homolog tertentu. Ketidaksesuaian suhu tersebut, ditambah dengan kemurnian DNA cetakan yang kurang optimal, diduga menjadi salah satu penyebab tipisnya pita amplikon pada penelitian ini (Nugroho *et al.*, 2021). Selain

itu, pita hasil amplifikasi yang tipis juga dapat dipengaruhi oleh adanya kontaminan pada tahap ekstraksi, konsentrasi DNA template yang rendah, degradasi DNA, maupun konsentrasi dan jenis gel agarosa yang digunakan pada proses elektroforesis (Ballo & Nge, 2020).

Sampel tanah merupakan salah satu matriks lingkungan yang paling sulit digunakan dalam analisis molekuler karena mengandung berbagai senyawa penghambat (PCR inhibitors), seperti asam humat, asam fulvat, polisakarida, serta ion logam yang dapat menghambat aktivitas enzim DNA polimerase. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut dapat menurunkan efisiensi amplifikasi PCR meskipun DNA telah berhasil diekstraksi. Oleh karena itu, proses pemurnian DNA merupakan tahapan yang sangat penting untuk menghilangkan inhibitor sehingga kualitas DNA meningkat dan dapat digunakan sebagai cetakan PCR secara optimal (Steffan *et al.*, 1988; Schrader *et al.*, 2012).

Selain faktor teknis pada proses ekstraksi dan amplifikasi, karakteristik tanah yang tercemar logam besi juga diduga memengaruhi kualitas DNA yang diperoleh. Konsentrasi logam yang tinggi dapat menyebabkan tekanan lingkungan terhadap komunitas mikroba sehingga hanya bakteri yang memiliki mekanisme adaptasi tertentu yang mampu bertahan. Beberapa mekanisme tersebut meliputi pembentukan biofilm, biosorpsi logam pada dinding sel, transformasi oksidasi-reduksi logam, serta sistem pompa efluks (*efflux pump*) yang berfungsi mengeluarkan ion logam dari dalam sel. Adaptasi tersebut memungkinkan mikroorganisme tetap hidup pada lingkungan yang tercemar logam berat sekaligus berpotensi dimanfaatkan dalam proses bioremediasi (Bruins *et al.*, 2000; Gadd, 2010).

Keberhasilan amplifikasi gen 16S rRNA pada penelitian ini menunjukkan bahwa DNA bakteri dari tanah tercemar besi masih dapat diisolasi dan digunakan sebagai cetakan PCR. Namun demikian, visualisasi pita DNA belum dapat memberikan informasi mengenai komposisi maupun keragaman komunitas bakteri yang terdapat pada sampel. Identifikasi taksonomi bakteri memerlukan analisis lanjutan melalui sekuensing gen 16S rRNA yang kemudian dibandingkan dengan basis data molekuler seperti SILVA atau GenBank. Pendekatan tersebut saat ini menjadi metode standar dalam studi mikrobiologi lingkungan karena mampu mengidentifikasi mikroorganisme yang tidak dapat dikultur menggunakan metode konvensional (Johnson *et al.*, 2019).

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa DNA total dari tanah tercemar besi di kawasan Taman, Sidoarjo berhasil diisolasi dan diamplifikasi, meskipun kualitas pita ampikon masih perlu ditingkatkan melalui optimasi konsentrasi DNA template, suhu annealing, serta peningkatan kemurnian DNA hasil ekstraksi. Penelitian ini merupakan tahap awal dalam

eksplorasi komunitas bakteri tanah tercemar besi dan dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan berupa sekuensing gen 16S rRNA guna mengidentifikasi keragaman bakteri serta mengevaluasi potensinya sebagai agen bioremediasi pada lingkungan yang tercemar logam berat.

KESIMPULAN

DNA total dari tanah tercemar besi di kawasan Taman, Sidoarjo berhasil diisolasi dari tiga titik pengambilan sampel menggunakan kombinasi lisis mekanik dan kimiawi. Amplifikasi gen 16S rRNA dengan primer universal 27F dan 1492R menghasilkan pita DNA yang terdeteksi melalui elektroforesis gel agarosa, meskipun intensitas pita masih rendah sehingga menunjukkan bahwa proses ekstraksi DNA dan kondisi PCR memerlukan optimasi lebih lanjut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa DNA bakteri dari tanah tercemar besi berhasil diperoleh dan menjadi dasar untuk penelitian lanjutan berupa sekuensing gen 16S rRNA guna mengidentifikasi komposisi dan keanekaragaman komunitas bakteri pada lokasi penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, atas dukungan fasilitas, peralatan, dan bantuan teknis selama pelaksanaan penelitian. Penulis juga menyampaikan apresiasi kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ballo, A., & Nge, S. T. (2020). Analisis keragaman genetik pada tanaman kelor (*Moringa oleifera*) berdasarkan penanda molekuler Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Jurnal Biotropikal Sains*, 17(1), 35-44.
- Bruins, M. R., Kapil, S., & Oehme, F. W. (2000). Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45(3), 198-207.
- Gadd, G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: Geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(3), 609-643. <https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). *Agarose Gel Electrophoresis*. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(1), pdb. Prot 100388. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot100388>
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., & Wellington, E. M. (1997). Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel electrophoretic separation in denaturing gradients. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3233-3241.

- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). *16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory*. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., & Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10, 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- Khasanah, U., Mindari, W., & Suryaminarsih, P. (2021). Kajian pencemaran logam berat pada lahan sawah. *Jurnal Teknik Kimia*, 15(2), 76-83.
- Kheyrodin, H., & Ghazvinian, K. (2015). Isolasi DNA tanah untuk digunakan dalam reaksi berantai polimerase (PCR) amplifikasi. *Jurnal Pertanian Afrika*, 7(2), 1158-1163.
- Lane, D. J. (1991). *16S/23S rRNA sequencing*. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics* (pp. 115-175).
- Mautuka, Z. A., Maifa, A., & Karbeka, M. (2022). Pemanfaatan biochar tongkol jagung guna perbaikan sifat kimia tanah lahan kering. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(4), 201-210.
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). *Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction*. *Methods in Enzymology*, 155, 335-350.
- Nugroho, K., Satyawan, D., Tasma, I. M., & Lestari, P. (2021). Ekstraksi DNA genomik: Tahap kritis dalam analisis molekuler tanaman. *Jurnal AgroBiogen*, 17(1), 34-45.
- Rasyid, R. A., Cools, N. A., & Mardiah. (2021). Studi remediasi tanah tercemar oleh aktivitas industri. *Jurnal Chemurgy*, 5(1), 1-7.
- Sasmito, D. E., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk sekuensing DNA: Mini review. *Prosiding Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed)*, 93-98.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1014-1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384>.
- Silver, S. (1996). Bacterial resistances to toxic metal ions: A review. *Gene*, 179(1), 9-19.
- Steffan, R. J., Goksøyr, J., Bej, A. K., & Atlas, R. M. (1988). Recovery of DNA from soils and sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(12), 2908-2915. <https://doi.org/10.1128/AEM.54.12.2908-2915.1988>
- Wang, L., Li, Y., Wang, S., Ye, J., & Liu, X. (2020). Microbial remediation of heavy metal contaminated soils: A review. *Environmental Research*, 186, 109542.
- Zymo Research. (2022). *ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit Instruction Manual*. Zymo Research Corporation.