

ABSTRAK

Isnanda Danur Nugroho. 24020120120022. **Bioprospeksi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Haloalkaliflik dari Gunung Lumpur Bledug Kesongo sebagai Penghasil Polihidroksialkanoat**, dengan bimbingan Anto Budiharjo dan Wijanarka

Bledug Kesongo merupakan salah satu situs geotermal di Indonesia yang memiliki potensi mikroba. Tingginya salinitas dan pH Bledug Kesongo menjadi habitat yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri haloalkaliflik. Bakteri haloalkaliflik adalah bakteri yang mampu hidup pada lingkungan hipersalin dan hiperalkalin, salah satu strategi adaptasinya yaitu dengan mengakumulasi polihidroksialkanoat (PHA) sebagai *compatible solute* untuk menjaga osmolaritas sel. PHA merupakan biopolimer yang disimpan pada sitoplasma sel bakteri sebagai cadangan makanan pada kondisi stress lingkungan. PHA berpotensi mampu mensubstitusi plastik konvensional sebagai materi bioplastik dengan sifat *biodegradable*, *biocompatible*, dan ramah lingkungan. PHA juga dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang seperti pertanian, kesehatan, maupun industri. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati keragaman bakteri haloalkaliflik, menganalisis produksi PHA, dan mengidentifikasi spesies isolat bakteri secara molekuler. Pengambilan sampel lumpur Bledug Kesongo dilakukan untuk mengisolasi bakteri haloalkaliflik. Bakteri halofilik pada Bledug Kesongo dikategorikan sebagai moderat halofilik dan alkaliflik. Bakteri diisolasi melalui metode *serial dilution*, *spread plate*, dan *pick colony* menggunakan media minimum Luria Bertani modifikasi 0.1x dan 0.01x. Sebanyak 35 isolat berhasil diperoleh dengan karakteristik makroskopis yang didominasi bentuk *round*, tepi *smooth*, elevasi *raised*, tekstur *moist*, dan warna cokelat-krem; sedangkan karakteristik mikroskopis didominasi oleh bakteri Gram positif sebanyak 28 isolat dengan bentuk sel *coccus*. Kemampuan produksi PHA dikonfirmasi melalui skrining Sudan Black B dan Nile Blue A. Hasil yang diperoleh sebanyak 14 dari 35 isolat bakteri haloalkaliflik berpotensi sebagai penghasil PHA, isolat yang menghasilkan PHA terbanyak yaitu BK25 dan BK30. Produksi isolat BK25 dan BK30 dilakukan dengan fermentasi *shake flask* dan metode ekstraksi dispersi sodium hipoklorit-kloroform. Kedua isolat terbaik mampu menghasilkan PHA dengan rerata PHA *content* 12,9% untuk BK25 dan 18,6% untuk BK30. Spesies isolat bakteri penghasil PHA berdasarkan identifikasi molekuler gen 16S rRNA yaitu *Priestia flexa* (BK25) dan *Bacillus flexus* (BK30). Isolat BK 25 kemudian diunggah pada NCBI dengan *accession number* PV076978 dan isolat BK30 PV076977.

Kata kunci: Bledug Kesongo, bakteri haloalkaliflik, polihidroksialkanoat (PHA), identifikasi molekuler 16S rRNA

ABSTRACT

Isnanda Danur Nugroho. 24020120120022. **Bioprospection and Molecular Identify of Haloalkaliphilic Bacteria form Bledug Kesongo Mud Volcano as Polyhydroxyalkanoate Producers**, under the guidance of Anto Budiharjo and Wijanarka

Bledug Kesongo is one of Indonesia's geothermal sites with significant microbial potential. Its high salinity and alkaline pH make it a suitable habitat for the growth of haloalkaliphilic bacteria—microorganisms that thrive in hypersaline and hyperalkaline environments. One of their adaptive strategies is the accumulation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) as compatible solutes to maintain cellular osmolarity. PHAs are biopolymers stored in the bacterial cytoplasm as carbon and energy reserves under environmental stress conditions. They have the potential to substitute conventional plastics due to their biodegradable, biocompatible, and environmentally friendly properties. PHAs also have wide-ranging applications in agriculture, healthcare, and various industries. This study aimed to investigate the diversity of haloalkaliphilic bacteria, analyze their PHA production capabilities, and identify the bacterial isolates at the molecular level. Mud samples were collected from Bledug Kesongo to isolate haloalkaliphilic bacteria. The halophilic bacteria from this site were classified as moderately halophilic and alkaliphilic. Isolation was conducted using the serial dilution, spread plate, and colony picking methods, with modified minimal Luria Bertani media (0.1x and 0.01x). A total of 35 bacterial isolates were obtained, showing predominantly round-shaped, smooth-edged, raised-elevation, moist-textured, and cream-brown pigmented macroscopic characteristics. Microscopically, 28 of the isolates were Gram-positive cocci. PHA production ability was confirmed through Sudan Black B and Nile Blue A staining. Out of 35 isolates, 14 showed potential as PHA producers, with isolates BK25 and BK30 producing the highest amounts. PHA production by BK25 and BK30 was carried out using shake flask fermentation and sodium hypochlorite–chloroform dispersion extraction. The two best-performing isolates produced PHA with an average content of 12.9% (BK25) and 18.6% (BK30). Based on 16S rRNA gene molecular identification, isolate BK25 was identified as *Priestia flexa*, while BK30 was identified as *Bacillus flexus*. The partial 16S rRNA gene sequences were submitted to NCBI with accession numbers PV076978 (BK25) and PV076977 (BK30), respectively.

Keywords: Bledug Kesongo, haloalkaliphilic bacteria, polyhydroxyalkanoates (PHA), molecular identification 16S rRNA.