

ANALISIS IN SILICO KERAGAMAN BAKTERI METILOTROF PADA MULUT MANUSIA

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



disusun oleh:
Nur Hasanah
16640072

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2020



PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-2878/Un.02/DST/PP.00.9/12/2020

Tugas Akhir dengan judul : Analisis In Silico Keragaman Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : NUR HASANAH
Nomor Induk Mahasiswa : 16640072
Telah diujikan pada : Jumat, 18 Desember 2020
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 5fe992afefa18



Penguji I

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 5fe977f776296



Penguji II

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 5fe995eb1437b



Yogyakarta, 18 Desember 2020
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 5feac38fc7b77

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-



UINSK-BM-05-03/R0

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Nur Hasanah
NIM : 16640072
Judul Skripsi : Analisis In Silico Keragaman Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.


Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 11 Desember 2020

Pembimbing


Jumailatus Solihah, S. Si., M.Si.
NIP. 19760624200512007

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Nur Hasanah

NIM : 16640072

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuk sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 11 Desember 2020

Yang menyatakan,


STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KUNINGA
YOGYAKARTA

METERAI
TEMPEL
0E33CAHF744603275
6000
ENAM RIBURUPIAH

Nur Hasanah
Nur Hasanah
NIM. 16640072

HALAMAN MOTTO

*"Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum
hingga mereka mengubah diri mereka sendiri"*

(QS. Ar-Ra'ad: 11)

Ojo Kuminter Mundak Keblinger, Ojo Cidra Mundak Cilaka

(Kanjeng Sunan Kalijaga)

Ojo Ketungkul Marang Kalungguhan, Kadonyan lan Kemareman

(Kanjeng Sunan Kalijaga)

Mustahil adalah Opini

(Penulis)



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya yang sederhana ini dipersembahkan kepada Almamater tercinta BIOLOGI UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta, kepada Ayahanda Sutoyo dan Ibu Rumini, serta kepada seluruh keluarga besar yang telah memberikan kasih dan sayang begitu besar kepada penulis.



KATA PENGANTAR

Dengan menyebut asma Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Segala puji hanya kepada Allah, dan kepada-Nya kita memohon pertolongan atas segala perkara dunia dan akhirat. Sholawat serta salam, semoga selalu tercurahkan kepada baginda Nabi Besar Muhammad SAW sebagai suri tauladan bagi seluruh umat manusia. Berjuta rasa syukur kehadiran Allah swt atas limpahan Rahmat, serta Hidayah-Nya, sehingga skripsi dengan judul “ANALISIS IN SILICO KERAGAMAN BAKTERI METILOTROF PADA MULUT MANUSIA” dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

Ucapan terima kasih tidak lupa disampaikan sebesar-besarnya kepada Ayahanda Sutoyo, Ibu Rumini, serta seluruh keluarga besar atas segala do'a, semangat, motivasi, nasehat, kesabaran serta kasih sayang yang telah diberikan. Secara mendalam ucapan terima kasih juga disampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Khurul Wardati, M. Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Najda Rifqiyati, S. Si., M. Si., selaku Ketua Progam Studi Biologi yang telah memberikan fasilitas serta arahan selama penyusunan kegiatan belajar di Progam Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Jumailatus Solihah, S. Si., M. Biotech., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Skripsi yang telah sabar memberikan ilmu, arahan, masukan, serta telah bersedia meluangkan waktu dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Arifah Khusnuryani, S. Si., M. Si., selaku Dosen Penguji I dan Ibu Erny Qurotul Ainy, S. Si., M. Si., selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan ilmu serta masukan.
5. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Pengajar Progam Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga yang telah mengajarkan banyak hal serta pengetahuan selama menuntut ilmu di kampus ini, serta seluruh staf kependidikan sub bagian akademik Progam Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

6. Seluruh Laboran Laboratorium Progam Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah memberikan ilmu, arahan, dan membantu selama pelaksanaan kegiatan laboratorium.
7. Sahabat-sahabatku Faroh, Amel, Syiva, Diyah, Nuci, Sri, Istaufa yang selalu memberikan dukungan dan solusi dalam penyelesaian masalah-masalah.
8. Teman-teman angkatan 2016 Biologi dan teman-teman BIOLASKA yang telah memberikan dukungan dan motivasi.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhirnya dengan kerendahan hati, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran sangat diharapkan demi perbaikan di masa mendatang. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam pengembangan ilmu Biologi.

Yogyakarta, 28 Desember 2020

Penulis



Analisis In Silico Keragaman Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia

Nur Hasanah
16640072

Abstrak

Metilotrof merupakan bakteri yang mampu memanfaatkan senyawa karbon tunggal sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk pertumbuhannya. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa bakteri metilotrof dapat ditemukan di beberapa habitat, bahkan sebagai mikrobiota normal pada mulut manusia. Berbagai strain dari kelompok Actinobacteria (*Brevibacterium*, *Gordonia*, *Leifsonia*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*), Proteobacteria (*Achromobacter*, *Hyphomicrobium*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Variovorax*) serta Firmicutes (*Bacillus*) telah berhasil diisolasi dari mulut manusia sebagai bakteri metilotrof. Penelitian ini bertujuan untuk melihat hubungan filogenetik bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia berdasarkan sekuens gen 16S rRNA. Sekuens gen 16S rRNA bakteri metilotrof pada mulut manusia yang diperoleh dari *database* NCBI selanjutnya *dialignment* menggunakan metode *MUSCLE* pada progam MEGAX. Konstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan progam MEGAX berdasarkan metode *Maximum Likelihood*. Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia terbagi menjadi 2 *klade* utama yang memisahkan kelompok Firmicutes dari kelompok Actinobacteria dan Proteobacteria. *Klade* pertama antara kelompok Actinobacteria dengan Proteobacteria masing-masing membentuk percabangan yang berbeda. Analisis *bootstrap* terhadap percabangan pohon filogenetik dilakukan dengan 500 pengulangan. Nilai *bootstrap* kelompok Proteobacteria relatif lebih kecil dibandingkan dengan nilai *bootstrap* pada kelompok Actinobacteria dan Firmicutes.

Kata kunci: Gen 16S rRNA, metilotrof, mulut manusia, dan pohon filogenetik.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
Abstrak	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan	4
D. Manfaat	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Bau Mulut (<i>Halitosis</i>)	5
B. Bakteri Metilotrof	9
C. Analisis Molekuler Keragaman Genetik Mikroba	13
BAB III	18
METODE PENELITIAN	18
A. Waktu dan Tempat Penelitian	18
B. Alat dan Bahan	18
C. Prosedur dan Pelaksanaan Penelitian	18
D. Analisis Data	21

BAB IV	22
HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia	22
B. Kemampuan Memanfaatkan Senyawa Karbon Tunggal oleh Bakteri Metilotrof	43
C. Konstruksi Pohon Filogenetik Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia	59
BAB V.....	67
PENUTUP	67
A. Kesimpulan	67
B. Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	79



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
 YOGYAKARTA

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Substrat Metilotrof Obligat dan Fakultatif	45
Gambar 2. Langkah-Langkah Umum Metabolisme Metilotrof dengan Beberapa Jalur Asimilasi	46
Gambar 3. Konversi Metana menjadi Metanol pada Bakteri Metilotrof	47
Gambar 4. Tiga Kelas Enzim pada Konversi Metanol menjadi Formaldehida ...	50
Gambar 5. Jalur dan Enzim yang Mendegradasi Dimetil Sulfon pada <i>Hyphomicrobium sulfonivorans</i> S1	51
Gambar 6. Jalur RuBP dari Asimilasi CO ₂	53
Gambar 7. Jalur RuMP dari Fiksasi Formaldehida	54
Gambar 8. Jalur Serin dari Asimilasi Formaldehida.....	56
Gambar 9. Distribusi Jalur Asimilasi Karbon pada Bakteri Metilotrof	58
Gambar 10. Konstruksi Pohon Filogenetik Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia dengan Metode <i>Maximum Likelihood</i> berdasarkan Model <i>Tamura-Nei</i>	62

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia (Anesti et al. 2005)	23
Tabel 2. Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia (Hung et al. 2011)	30-31
Tabel 3. Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia (Waturangi et al. 2011)	37
Tabel 4. Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia (Carvajal et al. 2011)	39
Tabel 5. Strain Umum dari Bakteri Metilotrof yang ditemukan pada Mulut Manusia	61



DAFTAR LAMPIRAN

1. Pengumpulan Data Sekuens dari NCBI 79
2. Penjajaran Sekuens Gen 16S rRNA Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia Menggunakan Progam MEGAX 80
3. Konstruksi Pohon Filogenetik Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia Menggunakan Progam MEGAX 82



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bau mulut menjadi salah satu masalah umum yang ditemukan pada mulut manusia. Istilah bau mulut digunakan untuk menjelaskan suatu keadaan bau tidak sedap yang timbul dari rongga mulut manusia. Keadaan bau tidak sedap tersebut dapat timbul dari faktor intraoral dan ekstraoral baik secara fisiologis maupun patologis. Faktor intraoral dapat berasal dari beberapa masalah gangguan pada mulut seperti *tongue coating*, *necrotizing ulcerative gingivitis*, karies gigi, serta masalah kebersihan pada mulut. Faktor yang berasal dari bagian tubuh selain mulut seperti, keadaan suatu penyakit tertentu juga dapat mengalirkan senyawa berbau melalui rongga mulut (Preti *et al.*, 1992).

Komponen-komponen dalam udara nafas atau udara dalam mulut yang membawa bau tidak sedap menyebabkan timbulnya bau mulut. Banyak di antaranya muncul terutama dari aktivitas mikroba baik pada mulut yang sehat maupun yang sakit, dan melalui aliran darah yang membawa senyawa organik mudah menguap *volatile organic compound* dari tempat lain di tubuh. Diantara *volatile organic compound* terdapat senyawa sulfur mudah menguap yang memiliki bau tidak sedap dan biasa disebut dengan *volatile sulfur compound*. *Volatile sulfur compound* sebagai substansi yang berpengaruh terhadap bau mulut diantaranya terdapat senyawa hidrogen sulfida (H_2S), metil merkaptan (CH_3SH), dan beberapa dimetil sulfida [$(CH_3)_2S$] (Kelly dan Wood, 2010).

Kondisi kelembapan tinggi dengan adanya makanan terlarut menjadikan mulut sebagai lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme. Mikrobiota normal dalam rongga mulut sangat beragam dan bergantung pada kesehatan pribadi masing-masing individu (Irianto, 2013). Beberapa senyawa organik dapat dikeluarkan dari mulut atau sumber lain di dalam tubuh, mulai dari dimetil sulfida, metil merkaptan, amonia, metana, metanol dan alkohol lainnya,

hingga alkana rantai panjang, karbon disulfida, dan isoprena (Deng *et al.*, 2004; Ligor *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2007).

Aktivitas mikrobiota normal dalam mulut mampu menghasilkan *volatile sulfur compound* seperti pada aktivitas pemecahan protein di mulut, termasuk sisa makanan, sel epitel, jaringan mulut, serta kolagen yang merupakan jaringan ikat penyangga gigi (Kelly dan Wood, 2010). Beberapa *volatile sulfur compound* juga dapat timbul dari suatu penyakit yang diderita seseorang. Senyawa seperti formaldehida diketahui dapat timbul pada tubuh penderita penyakit paru-paru dan sekaligus menjadi biomarker keberadaan tumor dalam tubuh. Proses biosintesis penyakit kolestrol dapat mengalirkan senyawa berbau melalui mulut seperti isoprene (Wang *et al.*, 2008).

Metilotrof merupakan salah satu bakteri yang mampu memanfaatkan senyawa karbon tunggal seperti metana, metanol, dan senyawa termetilasi lainnya yang mengandung belerang sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya (Hanson dan Hanson, 1996). Terdapat beberapa enzim yang diduga terlibat dalam metabolisme senyawa karbon tunggal tertentu, seperti metan monooksigenase, metanol dehidrogenase, metilamin dehidrogenase, metiltransferase, dan dimetilsulfida monooksigenase (Anesti *et al.*, 2005; Chistoserdova *et al.*, 2005; Hanson dan Hanson, 1996). Senyawa karbon tunggal digunakan sebagai bahan dasar dalam metabolisme bakteri metilotrof yang kemudian diolah menjadi materi sel dan sumber energinya. Karbondioksida yang diperoleh dari lingkungan luar sel maupun produk dari asimilasi formaldehida digunakan sebagai sumber karbon (Kelly dan Wood, 2010).

Bakteri metilotrof dapat ditemukan di beberapa habitat seperti pada daun, air tercemar, udara, tanah (Pasamba *et al.*, 2007), air minum (Gallego *et al.*, 2005), vehicular soot (Jang dan Lee, 2008), dan beras (Madhaiyan *et al.*, 2007), serta menariknya bakteri metilotrof ini juga telah ditemukan sebagai mikrobiota normal pada mulut (Anesti *et al.*, 2005; Carvajal *et al.*, 2011; Hung *et al.*, 2011; Waturangi *et al.*, 2011) dan kaki manusia (Anesti *et al.*, 2004).

Organisme metilotrof diduga memainkan peran penting dalam regulasi senyawa karbon tunggal yang berbau pada mulut, serta mempertahankan homeostatis di dalam rongga mulut. Beberapa pendekatan melalui pemanfaatan metilotrof dalam aplikasi klinis diduga dapat digunakan untuk mengatasi masalah bau mulut. Pengujian yang ketat terkait karakteristik biokimia, fisiologis maupun molekulernya masih perlu dilakukan untuk memastikan patogenitas dari organisme yang digunakan. Studi tentang potensi metilotrof pada mulut manusia belum mengarah pada aplikasi klinis yang mungkin bermanfaat dalam penanganan masalah bau mulut.

Kehadiran metilotrof pada mulut manusia sejauh ini baru dikaji oleh 4 penelitian yaitu mengenai isolasi bakteri metilotrof pada mulut manusia pasien gigi di salah satu rumah sakit daerah London oleh Anesti *et al.* (2005). Metilotrof fakultatif pada mulut manusia dari subjek bukan perokok menjadi laporan kedua mengenai keragaman metilotrof pada mulut manusia di daerah London oleh Hung *et al.* (2011). Bakteri metilotrof pada mulut manusia juga pernah diisolasi dari mulut subjek di daerah tropis yaitu Indonesia oleh Waturangi *et al.* (2011). Penelitian terakhir yaitu mengenai *Methylobacterium zatmanii* sebagai metilotrof fakultatif berwarna merah muda dari gigi geraham pasien karies gigi di daerah Filipina oleh Carvajal *et al.* (2011).

Penelitian tentang hubungan filogenetik bakteri metilotrof pada mulut manusia secara molekuler sampai sekarang masih belum dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan filogenetik bakteri metilotrof yang telah ditemukan sebagai mikrobiota pada mulut manusia. Informasi tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai bahan studi lanjut untuk memperluas penelitian mengenai bakteri metilotrof pada mulut manusia sebagai kandidat potensial pengurangan senyawa berkarbon tunggal pada mulut manusia. Penelitian ini mengarah pada analisis secara *in silico* keragaman bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia berdasarkan gen 16S rRNA. Pemanfaatan gen 16S rRNA juga telah terbukti sangat berguna dan akurat untuk menentukan hubungan kekerabatan bakteri dalam pohon filogenetik (Liu *et al.*, 1997).

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri apa saja yang ditemukan memiliki kemampuan metilotrof pada mulut manusia?
2. Bagaimana hubungan isolat-isolat bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia dalam pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen 16S rRNA?

C. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman bakteri metilotrof pada mulut manusia serta hubungan mereka dalam pohon filogenetik secara *in silico* berdasarkan gen 16S rRNA.

D. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini antara lain adalah:

1. Hasil dari analisis ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk studi lanjut deteksi keberadaan metilotrof pada mulut manusia yang terkait dengan karakteristik fisiologi, biokimia maupun molekuler dari bakteri tersebut serta kemungkinan hubungan mereka dengan senyawa karbon tunggal pada mulut manusia.
2. Memberikan informasi untuk pengujian lebih lanjut mengenai organisme metilotrof yang bersifat patogen sehingga dapat dilakukan alternatif lain dalam pemanfaatan bakteri metilotrof pada bidang kesehatan mulut.

BAB V

PENUTUP

1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia cukup beragam mulai dari *Achromobacter* sp, *B. licheniformis*, *B. casei*, *G. terrae*, *H. sulfonivorans*, *K. pneumonia*, *Leifsonia* sp, *Methylobacterium* sp, *M. esteraromaticum*, *M. luteus*, *P. mendocina*, *Ralstonia picketti*, *R. corynebacteroides* dan *V. paradoxus*.
2. Hasil analisis filogenetik menggunakan sekuens gen 16S rRNA menunjukkan bahwa bakteri metilotrof pada mulut manusia terdiri dari anggota Proteobacteria (*Achromobacter*, *Hyphomicrobium*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, dan *Variovorax*), Actinobacteria (*Brevibacterium*, *Gordonia*, *Leifsonia*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, dan *Rhodococcus*) dan Firmicutes (*Bacillus*). Berdasarkan konstruksi pohon filogenetik bakteri metilotrof pada mulut manusia terbagi menjadi 2 *klade* utama yang memisahkan kelompok Firmicutes dari kelompok Actinobacteria dan Proteobacteria. *Klade* I ditemukan Actinobacteria dengan Proteobacteria masing-masing membentuk percabangan yang berbeda. Analisis *bootstrap* dengan menggunakan 500 pengulangan menunjukkan nilai *bootstrap* kelompok Proteobacteria relatif lebih kecil dibandingkan dengan kelompok Actinobacteria dan Firmicutes.

2. Saran

Saran yang ingin disampaikan dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bakteri metilotrof pada mulut manusia terkait dengan biokimia, karakteristik fisiologi maupun molekuler dari bakteri metilotrof. Informasi tersebut dapat ditindak lanjuti sebagai perkembangan teknologi dengan memanfaatkan bakteri metilotrof dalam berbagai bidang khususnya bidang klinis. Berapa bakteri metilotrof pada mulut manusia ditemukan

memiliki sifat patogen terhadap manusia. Pemanfaatan enzim atau gen tertentu pada metabolisme metilotrof dapat digunakan dalam aplikasi klinis untuk mengurangi resiko patogen dibandingkan dengan memasukkan sel bakteri metilotrof secara utuh pada suatu produk klinis.



DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, N. P., & Artawa, I. M. (2016). Pengaruh Penyakit Gigi dan Mulut Terhadap Halitosis. *Jurnal Kesehatan*, 4(1), 24-28.
- Alves, A. M. C. R., Euverink, G. J. W., Santos, H., & Dijkhuizen, I. (2001). Different Physiological Roles of ATP and PP_i-dependent Phosphofructokinase *Amycolatopsis methanolica*. *Journal of Bacteriology*, 184(24), 7231-40.
- Anesti, V., McDonald, I. R., Ramaswamy, M., Wade, W. G., Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2005). Isolation and Molecular Detection of Methylotrophic Bacteria Occuring in the Human Mouth. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1227-1238.
- Anesti, V., Vohra, J., Goonetilleka, S., & McDonald, I. R. (2004). Molecular Detection and Isolation of Facultatively Methylotrophic Bacteria, Including *Methylobacterium podarium* sp. nov., from the Human Foot Microflora. *Environmental Microbiology*, 6(8), 820-30.
- Anthony, C. (1982). *The Biochemistry of Methylotrophs*. London: Academic Press.
- Anthony, C., & Zatman, L. J. (1964). The Microbial Oxidation of Methanol. I. Isolation and Properties of Pseudomonas M27. *Biochemical Journal*, 92(3), 609-614.
- Anthony, C., & Williams, P. (2003). The Structure and Mechanism of Methanol Dehydrogenase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 11(1647; 1-2), 18-23.
- Aprilyanto, V., & Sembiring, L. (2016). *Filogenetik Molekuler. Teori dan Aplikasi. Cetakan Pertama*. Yogyakarta: Innosain.
- Arfman, N., de Vries, K. J., Moezelaar, H. R., Attwood, M. M., Robinson, G. K., van Geel, M., & Dijkhuizen, L. (1992). Environmental Regulation of Alcohol Metabolism in Thermotolerant Methylotrophic Bacillus Strains. *Archives of Microbiology*, 157(3), 272-78.
- Arfman, N., Watling, E. M., Clement, W., van Oosterwijk, R. J., de Vries, G. E., Harder, W., . . . Dijkhuizen, L. (1989). Methanol Metabolism in Thermotolerant Methylotrophic Bacillus strains Involving a Novel Catabolic NAD-dependent Methanol Dehydrogenase as a Key Enzyme. *Archives of Microbiology*, 152(3), 280-288.
- Aryetta, C. A. (2016). Pravelensi Haliosis pada Pasien yang Berkunjung ke Rumah Sakit Gigi dan Mulut. [Skripsi]. Sumatra: Universitas Sumatra.
- Bassalik, K. (1913). Uber die Verarbeitung der Oxalsäure durch *Bacillus extorquens* n.sp. *Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik*, 53, 255-302.
- Bassalik, C., Janota-Bassalik, L., & Brisou, J. (1960). Etude sur *Flavobacterium extorquens* (ex. *Pseudomonas extorquens*). *Annales de l'Institut Pasteur*, 98, 165-68.
- Bhat, J. V., & Barker, H. A. (1948). Studies on a New Oxalate Decomposing Bacterium, *Vibrio oxalaticus*. *Journal of Bacteriology*, 55(3), 359-368.
- Blake, C. C., Ghosh, M., Harlos, K., Avezoux, A., & Anthony, C. (1994). The Active Site of Methanol Dehydrogenase Contains a Disulphide Bridge Between Adjacent Cysteine Residues. *Nature Structural and Molecular Biology*, 1(2), 102-5.

- Boden, R., Borodina, E., Wood, A. P., Kelly, D. P., Murrell, J. C., & Schafer, H. (2011). Purification and Characterization of Dimethylsulfide Monooxygenase from *Hyphomicrobium sulfonivorans*. *Journal of Bacteriology*, 193(5), 1250-8.
- Boden, R., Thomas, E., Savani, P., Kelly, D. P., & Wodd, A. P. (2008). Novel Methylotrophic Bacteria Isolated from the River Thames (London, UK). *Environmental Microbiology*, 10(12), 3225-3236.
- Bollen, C. M., & Beikler, T. (2012). Halitosis the Multidisiplinary Approach. *International Journal of Oral Science*, 4(2), 55-63.
- Borodina, E., Kelly, D. P., Rainey, F. A., Ward-Rainey, N., & Wood, A. P. (2000). Dimethylsulfone as a Growth Substrate for Novel Methylotrophic Species of *Hyphomicrobium* and *Arthrobacter*. *Archives Microbiology*, 173(5-6), 425-437.
- Borodina, E., Kelly, D. P., Schumann, P., Rainey, F. A., Ward-Rainey, N., & Wood, A. P. (2002). Enzymes of Dimethylsulfone Metabolism and the Phylogenetic Characterization of the Facultative Methylotrophs *Arthrobacter sulfonivorans* sp. nov., *Arthrobacter methylotrophus* sp. nov. and *Hyphomicrobium sulfonivorans* sp. nov. *Archives Microbiology*, 177(2), 173-183.
- Brautaset, T., Jakobsen, O. M., Flickinger, M. C., Valla, S., & Ellingen, T. E. (2004). Plasmid-dependent Methylotrophy in Thermotolerant *Bacillus methanolicus*. *Journal of Bacteriology*, 186(5), 1229-1238.
- Brener, D. J., Krieg, N., R., & Staley, J., T. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume Two: The Proteobacteria, Part B The Gammaproteobacteria. USA: Springer.
- Brener, D. J., Krieg, N., R., & Staley, J., T. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume Two: The Proteobacteria, Part C The Alpha; Beta; Delta and Epsilonproteobacteria. USA: Springer.
- Brunner, W., Staub, D., & Leisinger, T. (1980). Bacterial Degradation of Dichloromethane. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(5), 950-958.
- Bulygina, E. S., Galchenko, V. F., Govorukhina, N. I., Netrusov, A. I., Nikitin, D. I., Trotsenko, Y. A., & Chumakov, K. M. (1990). Taxonomic Studies on Methylotrophic Bacteria by 5S ribosomal RNA Sequencing. *Journal of General Microbiology*, 136, 441-446.
- Busse, H. J., & Auling, G. (1992). *The Genera Alcaligenes and Achromobacter*. In *The Prokaryotes*, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., and Schleifer, K. H. (eds). New York: USA: Springer-Verlag.
- Carvajal, T. M., Tan, R. I., & Lee, A. (2011). *Methylobacterium zatmanii*, A Pink Pigmented Facultative Methylotrophic (PPFM) Bacterium Isolated from the Human Oral Cavity. *Philippine Journal of Systematic Biology*, 5, 1-9.
- Cavalli-Sforza, L. L. (1997). Genes, People and Languages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(15), 7719-24.
- Cercel, M. (1999). Nature, Nomenclature and Taxonomy of Obligate Methanol Utilizing Strains. *Roumanian Archives of Microbiology*, 58(1), 5-35.

- Chistoserdov, A. Y., Chistoserdova, L. V., McIntyre, W. S., & Lidstrom, M. E. (1994). Genetic Organization of the Mau Gene Cluster in *Methylobacterium extorquens* AM1: Complete Nucleotide Sequence and Generation and Characteristics of Mau Mutants. *Journal of Bacteriology*, 176(13), 4052-65.
- Chistoserdova, L., Kalyuzhnaya, G., & Lidstrom, M. E. (2005). C₁-Transfer Modules: from Genomics to Ecology. *ASM News*, 71.
- Davies, S. L., & Whittenbury, R. (1970). Fine Structure of Methane and other Hydrocarbon-Utilizing Bacteria. *Journal of General Microbiology*, 61(2), 227-232.
- Dedysh, S. N., Smirnova, K. V., Khmelenina, V. N., Suzina, N. E., Liesack, W., & Trotsenko, Y. A. (2005). Methylotrophic Autotrophy in *Beijerinckia mobilis*. *Journal of Bacteriology*, 187(11), 3884-88.
- den Dooren de Jong, L. E. (1927). Über Protaminophage Bakterien. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung II)*, 71, 193-232.
- Deng, C., Zhang, X., & Li, N. (2004). Investigation of Volatile Biomarkers in Lung Cancer Blood using Solid-Phase Microextraction and Capillary Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 808(2), 269-77.
- De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Scheilfer, K., & Whitman, W. B. (2000). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume Three: The Firmicutes. USA: Springer.
- Dewhirst, F. E., Chen, T., Izzard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C., Yu, W.-H., . . . Wade, W. G. (2010). The Human Oral Microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(2), 5002-5017.
- Dharmayanti, I. N. (2011). Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*, 1(21), 1-10.
- Dijkhuizen, L., & Arfman, N. (1990). Methanol Metabolism in Thermotolerant Methylotrophic *Bacillus* sp. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 215-220.
- Dijkhuizen, L., Arfman, N., Attwood, M. M., Brooke, A. G., Harder, W., & Waitling, E. M. (1988). Isolation and Initial Characterization of Thermotolerant Methylotrophic *Bacillus* strains. *FEMS Microbiology Letters*, 52(3), 209-214.
- Djaya, A. (2000). *Bau Mulut Nafas Tak Sedap*. Jakarta: P.T Dentak Lintas Mediatama.
- Dworkin, M., & Foster, J. W. (1956). Studies on *Pseudomonas methanica* (Sohnngen) nov. comb. *Journal of Bacteriology*, 72(5), 646-59.
- Foster, J. W., & Davis, R. H. (1966). A Methane Dependent Coccus, with Notes on Classification and Nomenclature of Obligate Methane Utilizing Bacteria. *Journal of Bacteriology*, 91(5), 1924-31.
- Gallego, V., Garcia, M. T., & Ventosa, A. (2005). *Methylobacterium variabile* sp. nov., A Methylotrophic Bacterium Isolated From an Aquatic Environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1429-1433.

- Goldberg, I., & Rokem, J. S. (1991). *Biology of Methylophilic*. USA: Butterworth-Heinemann.
- Goldberg, S., Cardash, H., Browning, H., Sahly, H., & Rosenberg, M. (1997). Isolation of Enterobacteriaceae from the Mouth and Potential Association with Malodor. *Journal of Dental Research*, 76(11), 1770-1775.
- Graf, W., & Bauer, L. (1973). Red Bacterial Growth (*Corynebacterium rubrum* n. spec.) in Tap Water Systems. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I, Originale)*, 236, 513-530.
- Green, P. N. (2006). *Methylobacterium*. In *the Prokaryotes, Vol. 5, 3rd edn.* M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, K-H Schleifer, E Stackebrandt (eds). New York: Springer.
- Green, P. N., & Bousfield, I. J. (1982). A Taxonomic study of Some Gram-Negative Facultatively Methylophilic Bacteria. *Journal of General Microbiology*, 128, 623-638.
- Greene, E. A., Beaty, P. H., & Fedorak, P. M. (2000). Sulfolane Degradation by Mixed Cultures and A Bacterial Isolate Identified as a *Variovorax* sp. *Archives of Microbiology*, 174, 111-19.
- Goodfellow, M., Kamofor, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume Five: The Actinobacteria, Part A. USA: Springer.
- Hadioetomo, R. S. (1993). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- Hall, B. G. (2001). *Phylogenetic Trees Made Easy: A How to Manual for Molecular Biologists*. USA: Sinauer Associates, Inc.
- Han, X. Y., Pham, A. S., Tarrand, J. J., Sood, P. K., & Luthra, R. (2002). Rapid and Accurate Identification of Mycobacteria by Sequencing hypervariable Regions of the 16S ribosomal RNA Gene. *American Journal of Clinical Pathology*, 118(5), 796-801.
- Hanson, R. S. (1980). Ecology and Diversity of Methylophilic Organisms. *Advances in Applied Microbiology*, 26, 3-39.
- Hanson, R. S., & Hanson, T. E. (1996). Methanophilic Bacteria. *Microbiol Rev*, 60(2), 439-471.
- Hanson, R. S., Netrusov, A. I., & Tsuji, K. (1991). *The Obligate Methanophilic Bacteria Methylococcus, Methylomonas and Methylosinus*. In *the Prokaryotes, vol. III, 2nd edn.* E Balows, HG Truper, M Dworkin, W Harder, K-H Schleifer (eds.). New York: Springer.
- Harvianti, Y. (2017). Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Penghasil Fitase Asal Tanaman Jagung (*Zea mays L.*) berbasis Gen 16S rRNA. [Skripsi]. Makassar: Universitas Alaudin Makassar.
- Hilman, E. T. (2007). Microbial Ecology Along the Gastrointestinal Tract. *Microbes and Enviroments*, 32(4), 300-33.

- Hingurao, K., & Nerurkar, A. (2018). A Novel Methylophilic Bacterial Consortium for Treatment of Industrial Effluents. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 185(3), 691-704.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edn.* Baltimore, MD, USA: Williams and Wilkins.
- Hung, W. L., Wade, W. G., Boden, R., Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2011). Facultative Methylophilic Bacteria from the Human Oral Cavity and Methylophilic Bacteria in Strains of *Gordonia*, *Leifsonia*, and *Microbacterium*. *Archives of Microbiology*, 193, 407-417.
- Irianto, K. (2013). *Mikrobiologi Medis (Medical Microbiology)*. Bandung: Alfabeta.
- Ismail, Y. S. (2002). Kelimpahan dan Keragaman Genetik Bakteri Pink Pigmented Facultative Methylophilic Bacteria dari Sejumlah Daun Tanaman Tropis. [Thesis]. Bogor: ITB.
- Jang, S. B., & Lee, A. C. (2008). Phenotypic Characterization of Pink Pigmented Facultative Methylophilic Bacteria from Soil Exposed to Vehicular Soot. *Phillippine Journal of Systematic Biology*, 2(1), 32-39.
- Jariah, R. O. (2014). Identifikasi Bakteri Pengoksidasi Metana dan Gen Fungsional Isolat dari Tanah Sawah dan Gambut. [Skripsi]. Bogor: ITB.
- Kalyuzhnaya, M. G., de Marco, P., Bowerman, S., Pacheco, C. C., Lara, J. C., Lidstrom, M. E., & Chistoserdova, L. (2006). *Methylophilic universalis* gen. nov., sp. nov., A Novel Taxon within the Betaproteobacteria Represented by Three Methylophilic Isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(Pt 11), 2517-2522.
- Kalyuzhnaya, M. G., Hristova, K. R., Lidstrom, M. E., & Chistoserdova, L. (2008). Characterization of a Novel Methanol Dehydrogenase in Representatives of Burkholderiales: Implications for Environmental Detection of Methylophilic Bacteria and Evidence for Convergent Evolution. *Journal of Bacteriology*, 190(11), 3817-3823.
- Kaminski, P. A., Batut, J., & Boistard, P. (1998). A Survey of Symbiotic Nitrogen Fixation by *Rhizobia*. In the : *The Rhizobiaceae, Molecular Biology of Model Plant Associated Bacteria. Sapaink HP, Kondorosi A, Hooykaas PJJ.* Inggris: Kluwer Academic.
- Kaneda, T., & Roxburgh, J. M. (1959). A Methanol Utilizing Bacterium. A Description and Nutritional Requirements. *Canadian Journal of Microbiology*, 5(2), 187-95.
- Kelly, D. P., & Wood, A. P. (1984). Potential for Methylophilic Autotrophy in *Thiobacillus versutus* (*Thiobacillus* sp. strain A2). In *Microbial Growth on C1 Compounds. RI Crawford, RS Hanson (eds.)*. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2010). Isolation and Characterization of Methanotrophs and Methylophilic Bacteria: Diversity of Methylophilic Organisms and of One-carbon Substrates. In: *Timmis KN (ed) Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. .

- Kemp, M. B., & Quayle, J. R. (1967). Microbial Growth on C₁ Compounds. Uptake of Formaldehyde and Formate by Methane-Grown *Pseudomonas methanica* and Determination of the Hexose Labelling Pattern After Brief Incubation with Methanol. *Biochemical Journal*, 102(1), 94-102.
- Kerstens, K., & De L. J. (1984). Genus *Alcaligenes Castellani and Chalmers 1919*, 936. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 8th edn, Vol. 1. Krieg, N.R., and Holt, J.G. (eds). Baltimore, MD, USA: Williams and Wilkins.
- Keune, H., Sahm, H., & Wagner, F. (1976). Production L-serine by the Methanol Utilizing Bacterium, *Pseudomonas 3ab*. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 2, 175-184.
- Knief, C., Lipski, A., & Dunfield, P. F. (2003). Diversity and Activity of Methanotrophic Bacteria in Different Upland Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6703-14.
- Krasil'nikov, N. A. (1959). *Diagnostik der Bakterien und Actinomyceten*. Jena: Gustav Fischer.
- Kukkamalla, M. A., Cornelio, S. M., Bhat, K. M., Avadhani, M., & Goyal, R. (2014). Halitosis a Social Malady. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(5), 55-61.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-74.
- Leisinger, T., & Braus-Stomeyer, S. A. (1995). Bacterial Growth with Chlorinated Methanes. *Environmental Health Perspectives*, 103 Suppl 5(Suppl 5), 33-36.
- Lidstrom, M. E. (2006). *Aerobic Methylophilic Prokaryotes*, pp. 618-634. In: Dworkin M, S. Falkow, E. Rosenberg, K-H Schleifer and E. Stackebrandt (eds). *The Prokaryotes*, Vol. 2. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Ligor, T., Szeliga, J., Jackowski, M., & Buszewski, B. (2007). Preliminary Study of Volatile Organic Compounds from Breath and Stomach Tissue by Means of Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Journal of Breath Research*, 1(1).
- Lipscomb, J. D. (1994). Biochemistry of the Soluble Methane Monooxygenase. *Annual Review of Microbiology*, 48, 371-399.
- Liu, J., Ledoux, D. R., & Veum, T. L. (1997). In Vitro Procedure for Predicting the Enzymatic Dephosphorylation of Phytate in Corn-Soybean Meal Diets for Growing Swine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2612-17.
- Liu, Q., Kirchhoff, J. R., Faehle, C. R., Viola, R. E., & Hudson, R. A. (2006). A Rapid Method for the Purification of Methanol Dehydrogenase from *Methylobacterium extorquens*. *Protein Expression and Purification*, 46(2), 316-20.
- Madhaiyan, M., Kim, B. Y., Poonguzhali, S., Kwon, S. W., Song, M. H., Ryu, J. H., . . . Sa, T. M. (2007). *Methylobacterium oryzae* sp. nov., an Aerobic, Pink-Pigmented, Facultatively Methylophilic, 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate Deaminase-Producing Bacterium Isolated from Rice. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 57(Pt 2) 326-331.

- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2006). *Brock Biology of Microorganisms 11th Ed.* New Jersey (US): Prentice Hall.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2009). *Brock Biology of Microorganism* Twelfth Edition. San Francisco: Pearson Education Inc.
- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J., & Wade, W. G. (1998). Design and Evaluation of Useful Bacterium Specific PCR Primer that Amplify Genes Coding for Bacterial 16S-rRNA. *Appl Environ Microbiol*, 64(2), 795-799.
- Matheson, L. J., Jahnke, L. L., & Oremland, R. S. (1997). Inhibition of Methane Oxidation by *Methylococcus capsulatus* with Hydrochlorofluorocarbons and Fluorinated Methanes. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2952-56.
- Meyer, C. P. (2003). Molecular Systematic of Cowries (Gastropoda: Cypridae) and Diversification Patterns in the Tropics. *Biological Journal of the Linnaen Society*, 79(3), 401-459.
- Miller, L. G., Sasson, C., & Oremland, R. S. (1998). Difluoromethane: A New and Improved Inhibitor of Methanotrophy. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(11), 4357-62.
- Moosvi, S. A., Donald, I. R., Pearce, D., Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2005). Molecular Detection and Isolation from Antarctica of Methylophilic Bacteria Able to Grow with Methylated Sulfur Compounds. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(6), 541-554.
- Morinaga, Y., Yamanka, S., & Takinami, K. (1981). L-Serine Production by Methanol-Utilizing Bacterium *Pseudomonas* MS31. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(6), 1419-1424.
- Mosin, O., & Ignatov, I. (2014). Evolution, Metabolism and Biotechnological Usage of Methylophilic Microorganisms. *European Journal of Molecular Biotechnology*, 5(3), 131-148.
- Mount, D. W. (2004). *Bioinformatic: Sequence and Genome Analysis*. CHSL Press: New York.
- Muzzazinah. (2017). *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi UNY: Metode Filogenetik pada Indigofera*, (pp. 25-39). Yogyakarta: UNY.
- Nakano, T., & Ozawa, T. (2006). Worldwide Phylogeography of Limpets of the Order Patellogastropoda: Molecular, Morphological and Palaeontological Evidence. *Journal of Molluscan Studies*, 73(1), 79-99.
- Nei, M. (1987). *Molecular Genetics*. New York: Columbia University New York Press.
- Nesvera, J., Patek, M., Hochmannova, J., Chibisova, E., Sererijski, I., Tyrganov, Y., & Netrusov, A. (1991). Transformation of a New Gram-positive Methylophilic, *Brevibacterium methylicum*, by Plasmid DNA. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 777-780.
- Newman, M. G., Takei, H. H., & Carranza, F. A. (2002). *Clinical Periodontology, 9th ed.* Philadelphia: W.B Saunders Company.

- Nishio, N., Yano, T., & Kamukubo, T. (1975). Isolation of Methanol-Utilizing Bacteria and its Vitamin B12 Production. *Agricultural and Biological Chemistry*, 39(1), 21-27.
- Okkerse, W. J., Ottengraf, S. P., Osinga-Kuipers, B., & Okkerse, M. (1999). Biomass Accumulation and Clogging in Biotrickling Filters for Waste Gas Treatment. Evaluation of a Dynamic Model using Dichloromethane as a Model Pollutant. *Biotechnology Bioengineering*, 63(4), 418-430.
- Oremland, R. S. (1996). *Microbial Degradation of Atmospheric Halocarbons. In Microbiology of Atmospheric Trace Gases. Sources, Sink and Global Change Processes, NATO ASI Series I, vol. 39., JC Murrel, DP Kelly (eds.).* Berlin and Heidelberg: Springer.
- Orla-Jensen, S. (1909). Die Hauptlinien des Natürlichen Bakteriensystems. *Centralblatt für Bakteriologie, Abt. II*, 22, 305-346.
- Pangastuti, A. (2006). Review Definisi Spesies Prokaryota berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Jurnal ISSN: 1412-033X*, 7(3), 292-296.
- Pasamba, E. M., Demigillo, R. M., & Lee, A. C. (2007). Antibigrams of Pink Pigmented Facultative Methylophilic Bacterial Isolates from Various Sources. *The Philippine Scientist*, 44, 47-56.
- Patt, T. E., Cole, G. C., & Hanson, R. S. (1976). Methylobacterium, A New Genus of Facultatively Methylophilic Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 26(2), 226-229.
- Peel, D., & Quayle, J. R. (1961). Microbial Growth on C₁ Compounds. I. Isolation and Characterization of Pseudomonas AM1. *Biochemical Journal*, 81(3), 465-69.
- Pintauli, S., & Hamada, T. (2012). *Menuju Gigi dan Mulut Sehat Pencegahan dan Pemeriksaan*. Medan: USU Press.
- Preti, G., Clark, I., Cowart, B. J., Feldman, R. S., Lowry, L. D., Weber, E., & Young, I. M. (1992). Non Oral Malodor and Altered Chemosensation. *Journal of Periodontology*, 63(9), 790-796.
- Quayle, J. R. (1972). The Metabolism of One-Carbon Compounds by Microorganisms. *Advances in Microbial Physiology*, 7, 119-203.
- Quayle, J. R., & Keech, D. B. (1959). Carbon Assimilation by *Pseudomonas oxalaticus* (OX1). 1. Formate and Carbondioxide Utilization during Growth on Formate. *Biochemical Journal*, 72(4), 623-30.
- Saitou, N., & Imanishi, T. (1989). Relative Efficiencies of the Foth Margoliash, Maximum-Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution, and Neighbor-Joining Methods of Phylogenetic Tree Construction in Obtaining the Correct Tree. *Molecular Biology and Evolution*, 6(5), 514.
- Sanz, M., Roldan, S., & Herrera, D. (2001). Fundamentals of Breath Maldour. *Journal Contemporary Dental Practice*, 2(4), 1-17.s

- Schendel, F. J., Bremmon, C. E., Flickinger, M. C., Guettler, M., & Hanson, R. S. (1990). L-Lysine Production at 50 C by Mutants of a Newly-Isolated and Characterized *Bacillus* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(4), 963-970.
- Shu, C. H., & Chen, C. K. (2009). Enhanced Removal of Dimethyl Sulfide from a Synthetic Waste Gas Stream using a Bioreactor Inoculated with *Microbacterium* sp. NTUT26 and *Pseudomonas putida*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 95-104.
- Smith, D., Turner, C., & Spanel, P. (2007). Volatile Metabolites in Exhaled Breath of Healthy Volunteers: Their Levels and Distribution. *Journal of Breath Research*, 1(1).
- Smith, T. J., & Murrell, J. C. (2010). *Biochemistry and Molecular Biology of Methane Monooxygenase*. In: Timmis KN (ed) *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Sohngen, N. L. (1906). Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung und Energiquelle gebrauchen. *Centralbl Bakteriol Parasitenk Abt I*, 15, 513-17.
- Sorokin, D. Y., Trotsenko, Y. A., Doronina, N. V., Tourova, T. P., Galinski, E. A., Kolganova, T. V., & Muyzer, G. (2007). *Methylohalomas lacus* gen. nov., sp. nov. and *Methylonatronum kenyense* gen. nov., sp. nov., Methylophilic Gammaproteobacteria from Hypersaline Lakes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(Pt 12), 2762-2769.
- Stackebrandt, E., & Goebel, B. M. (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), 846-49.
- Suwanto, A. (1995). *Proceeding of ASEAN-Japan Seminar and Workshop on Hospital Infectin: Bacterial Fingerprinting in the Investigation of Hospital Infectin*, p 24-30. In Y. Ngeow and Y. Hiramatsu (Eds). Kuala Lumpur: University Malaya.
- Suyono, Y. (2010). Penentuan Spesies Bakteri *Pseudomonas* dan Analisis Phylogenetic Tree secara Bioinformatika. *Biopropal Industri*, 01(02), 24-30.
- Tallamma, F. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap Penurunan Kadar Volatile Sulfur Compounds (VSCs). [Skripsi]. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin.
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
- Thulasi, K., Jayakumar, A., Pillai, A. P., Sankaramangalam, V. K., & Kumarapillai, H. (2018). Efficient Methanol-Degrading Aerobic Bacteria Isolated from a Wetland Ecosystem. *Archives of Microbiology*, 200, 829-833.
- Tzygankov, Y. D. (1986). *Physiological Characterization of Methylophilic Bacteria in Biology of Thermophilic Bacteria*. Moscow: Nauka.
- Ubaidillah, R., & Sutrisno, H. (2009). *Pengantar Biosistemik: Teori dan Praktikum*. Jakarta: LIPI Press.

- Urakami, T., Araki, H., Oyanagi, H., Suzuki, K., & Komagata, K. (1992). Transfer of *Pseudomonas aminovorans* (den Dooren de Jong 1926) to *Aminobacter* gen. nov. as *Aminobacter aminovorans* comb. nov. and Description of *Aminobacter aganoensis* sp. nov. and *Aminobacter niigataensis* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42(1), 84-92.
- Utama, A. (2003). *Aplikasi Bioinformatika dalam Virology*. Ilmu Komputer. com.
- Warner, K. L., Larkin, M. J., Harper, D. B., Murrel, J. C., & McDonald, I. R. (2005). Analysis of Genes Involved in Methyl Halide Degradation on *Aminobacter lisarensis* CC495. *FEMS Microbiology Letters*, 251(1), 45-51.
- Wang, T., Pysanenko, A., Dryahina, K., Spanel, P., & Smith, D. (2008). Analysis of Breath, Exhaled via the Mouth and Nose, and the Air in the Oral Cavity. *Journal of Breath Research*, 2, 1-13.
- Waturangi, D. E., Fransisca, I., & Susanto, C. O. (2011). Genetic Diversity of Methylophilic Bacteria from Human Mouth Based on Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA). *HAYATI Journal of Biosciences*, 18(2), 77-81.
- Weiss, K. M. (1995). *Genetic Variation and Human Diseases: Principles and Evolution Approaches*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Whang, E. J., & Kim, Y. M. (1990). Purification and Characterization of Methanol Dehydrogenase from *Methylobacterium* sp. strain SY1. *Korean Biochemical Journal*, 23(2), 190-7.
- Whittenbury, R., Davies, S. L., & Davey, J. F. (1970a). Exospores and Cysts Formed by Methane-utilizing Bacteria. *Journal of General Microbiology*, 61(2), 219-26.
- Whittenbury, R., Phillips, K. C., & Wilkinson, J. E. (1970b). Enrichment, Isolation and some Properties of Methane-utilizing Bacteria. *Journal of General Microbiology*, 61(2), 205-218.
- Yurimoto, H., Hirai, R., Yasueda, H., Mitsui, R., Sakai, Y., & Kato, N. (2002). The Ribulose Monophosphate Pathway Operon Encoding Formaldehyde Fixation in a Thermotolerant Methylophilic, *Bacillus brevis* S1. *FEMS Microbiology Letters*, 214, 189-193.
- Zhang, W., Zhang, T., Wu, S., Wu, M., Xin, F., Dong, W., . . . Jiang, M. (2017). Guidance for Engineering of Synthetic Methylophilicity Based on Methanol Metabolism in Methylophilicity. *Royal Society of Chemistry*, 7(7), 4083-91.

LAMPIRAN

1. Pengumpulan Data dari NCBI

a. Pencarian sekuens gen 16S rRNA bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia

The screenshot shows the NCBI GenBank entry for the Variovorax paradoxus strain 5KT2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (GenBank: AY686546.1). The entry includes the following information:

- LOCUS:** AY686546 495 bp DNA linear BCT 07-JUL-2005
- DEFINITION:** Variovorax paradoxus strain 5KT2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
- ACCESSION:** AY686546
- VERSION:** AY686546.1
- KEYWORDS:** .
- SOURCE:** Variovorax paradoxus
- ORGANISM:** Variovorax paradoxus; Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; Variovorax.
- REFERENCE:** 1 (bases 1 to 495)
- AUTHORS:** Anesti, V., McDonald, I.R., Ramasamy, M., Wiade, W.G., Kelly, D.P. and Wood, J.A.P.
- TITLE:** Isolation and molecular detection of methylotrophic bacteria occurring in the human mouth
- JOURNAL:** Environ. Microbiol. 7 (8), 1227-1238 (2005)

b. Pengunduhan sekuens gen 16S rRNA bakteri metilotrof pada mulut manusia dalam format fasta

The screenshot shows the same NCBI GenBank entry as above, but with a download menu open. The menu options are:

- File (selected)
- Clipboard
- Collections
- Analysis Tool

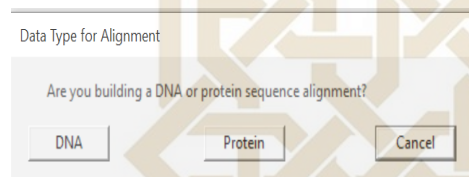
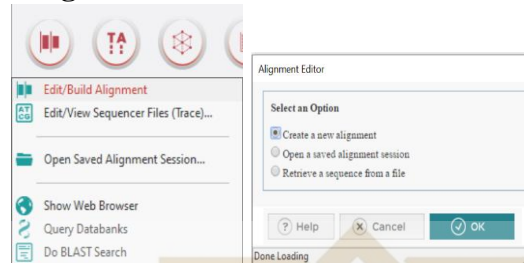
The download menu also shows the format set to FASTA and a 'Create File' button.

The FASTA sequence is displayed below the entry:

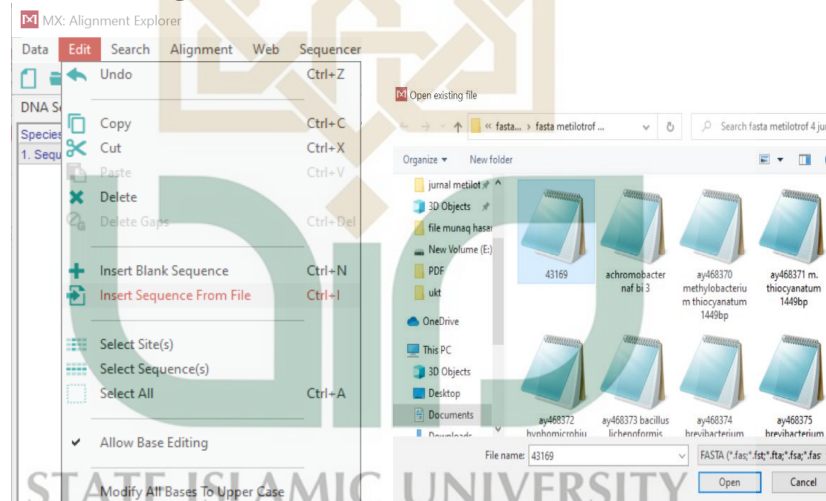
```
>AY686546.1 Variovorax paradoxus strain 5KT2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
TCCAGCCTGCCGCTGACAGGATGAAGGCTTCGGGTGTAACCTGCTTTTGTACGGAACGAACGCGCTT
TTCTAATAAAGAGGCTAATGACGCTACGTAAGAATAAGCAACCGCTAATCTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAAAGGCTGACAGGCTAATCGGAATTACTGGCGTAAGCGTGGCGAGCGGTAATGTAAGACA
GTTGTGAATCCCAGGCTCAACTGGGAATGCACTCTGTGACTGCAATGCTGGAGTACGGCAGAGGGGG
ATGGAATTCGCGTGTACAGTGAATGCGTAGATATCGGAAGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCT
GGGCTGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATAGATACCTCGTGTGTCACCG
CCTAACAGATGCAACTGGTGTGGGAATTCACCTTCTCAAGTAACGAAGCTACGCGTGAAGTTGACCCG
CTGG
```


2. Pensejajaran Sekuens Gen 16S rRNA Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia Menggunakan Program MEGAX

a. Program MEGAX dibuka

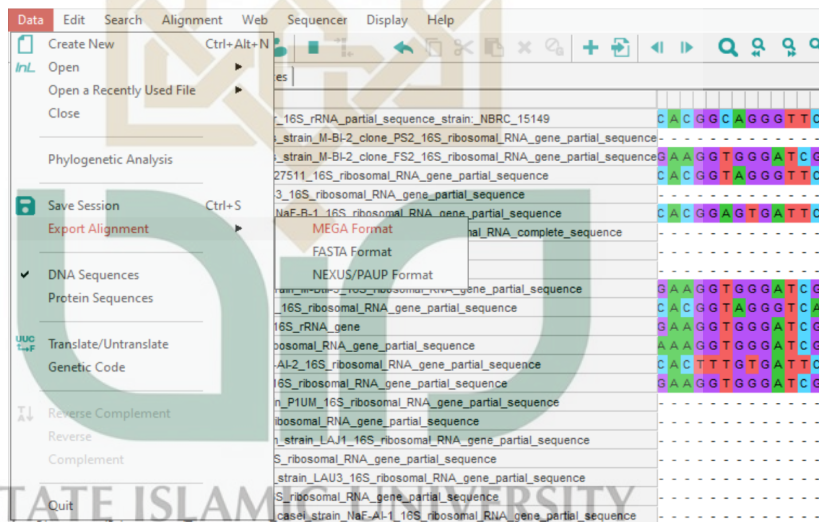
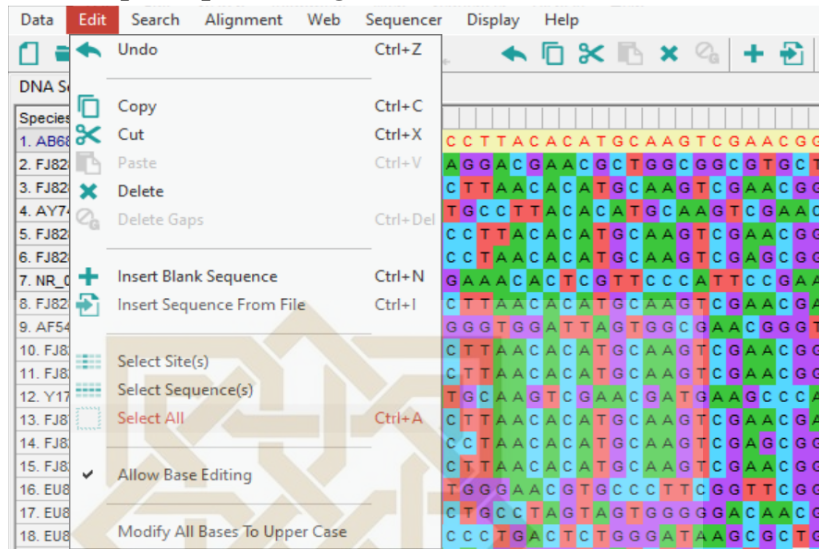


b. Sekuens target diinsert



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

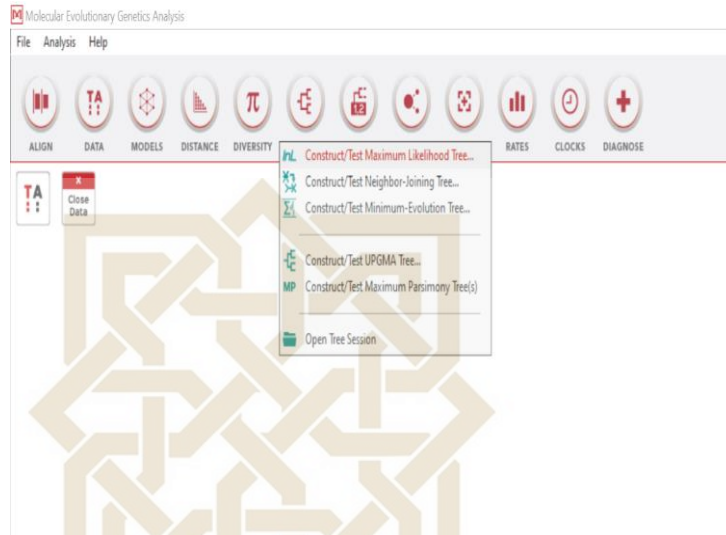
c. Proses *multiple sequence alignment*



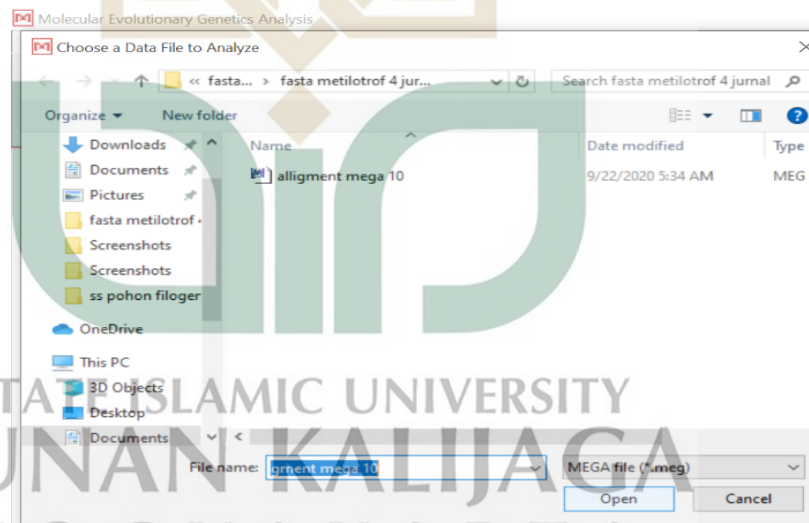
STATE ISLAM UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

3. Konstruksi Pohon Filogenetik Bakteri Metilotrof pada Mulut Manusia dengan Menggunakan program MEGAX

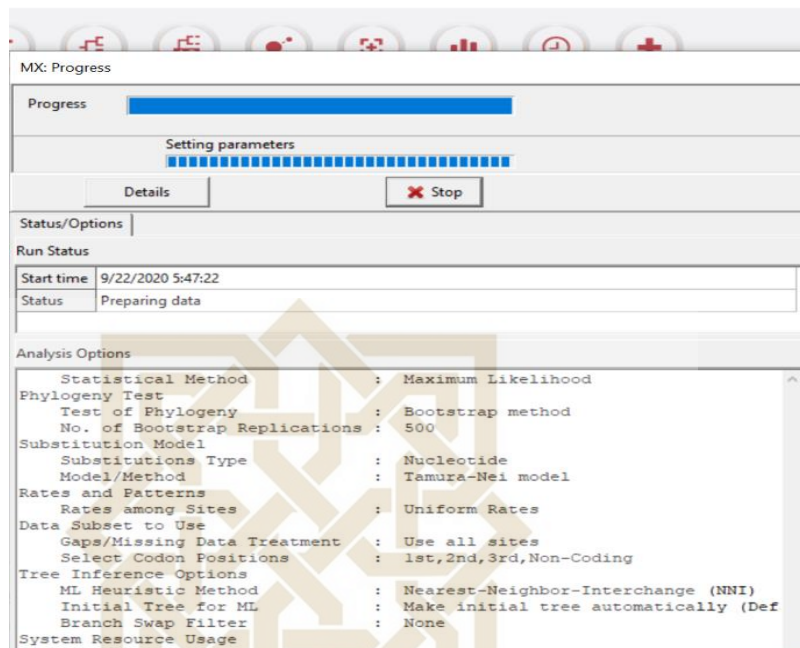
a. Program MEGAX dibuka, pada toolbar dipilih *Phylogeny* dan diklik *Construct/Test Maximum Likelihood Tree*



b. Pemilihan data



c. Proses konstruksi pohon filogenetik



The screenshot displays the MX software interface. At the top, there is a 'Progress' section with a blue progress bar. Below it, a 'Setting parameters' section shows a progress bar with small blue squares. A 'Details' button and a 'Stop' button with a red 'X' icon are visible. The 'Status/Options' section contains a 'Run Status' table with the following data:

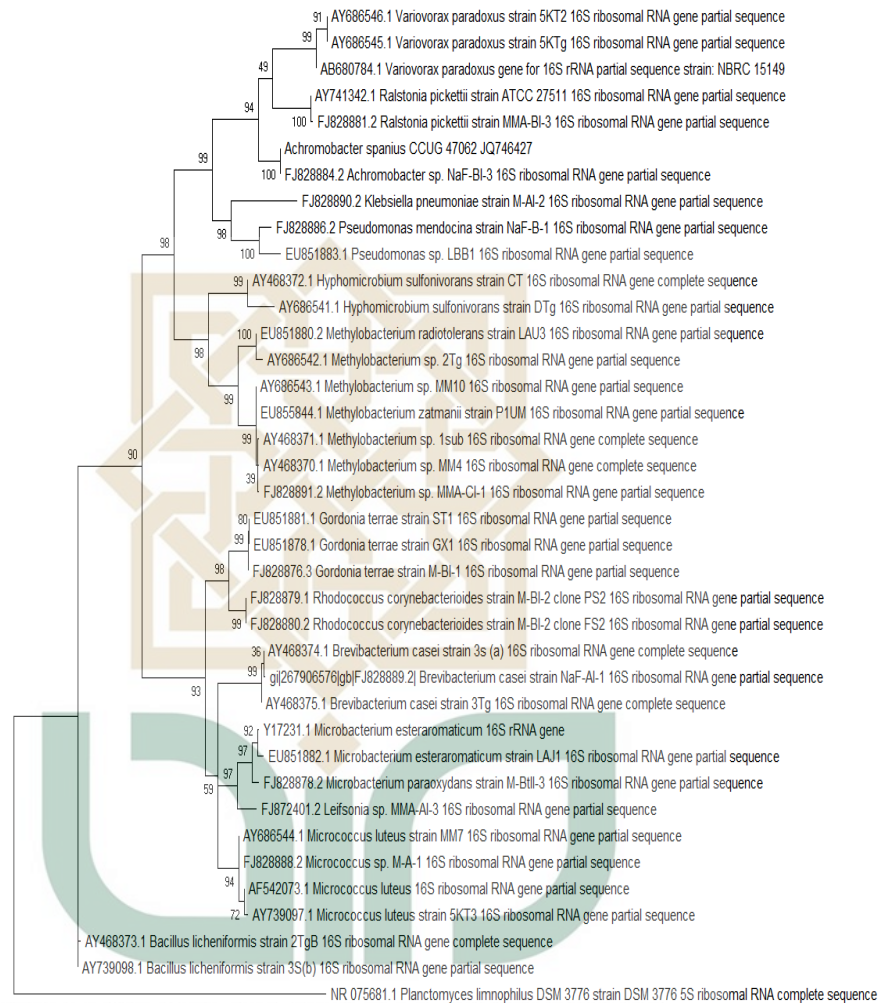
Run Status	
Start time	9/22/2020 5:47:22
Status	Preparing data

Below the status table is the 'Analysis Options' section, which lists various parameters and their values:

- Statistical Method : Maximum Likelihood
- Phylogeny Test : Bootstrap method
- Test of Phylogeny : Bootstrap method
- No. of Bootstrap Replications : 500
- Substitution Model : Nucleotide
- Substitutions Type : Tamura-Nei model
- Model/Method : Tamura-Nei model
- Rates and Patterns : Uniform Rates
- Rates among Sites : Uniform Rates
- Data Subset to Use : Use all sites
- Gaps/Missing Data Treatment : Use all sites
- Select Codon Positions : 1st,2nd,3rd,Non-Coding
- Tree Inference Options : Nearest-Neighbor-Interchange (NNI)
- ML Heuristic Method : Nearest-Neighbor-Interchange (NNI)
- Initial Tree for ML : Make initial tree automatically (Def
- Branch Swap Filter : None
- System Resource Usage : None

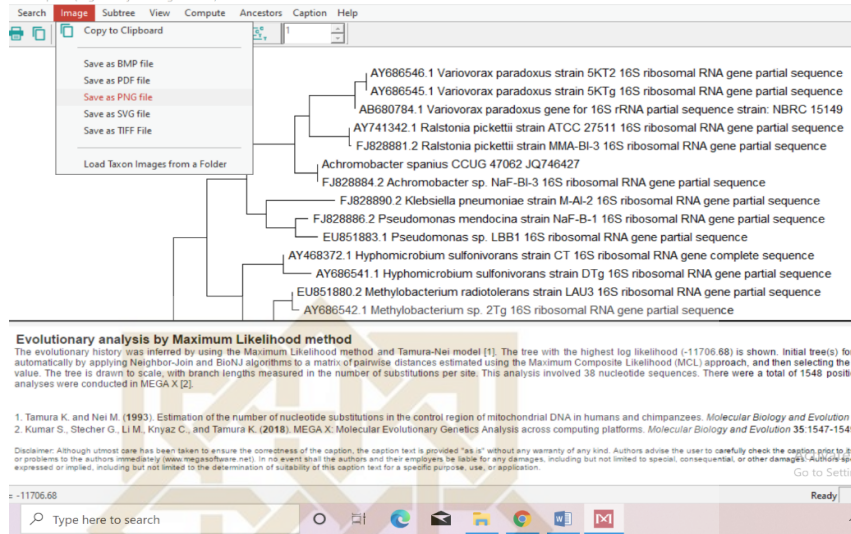
STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

d. Konstruksi pohon filogenetik bakteri metilotrof yang ditemukan pada mulut manusia



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
 SUNAN KALIJAGA
 YOGYAKARTA

e. Penyimpanan file pohon filogenetik



CURRUCULUM VITAE

Nama Lengkap : Nur Hasanah
Jenis Kelamin : Perempuan
Tanggal Lahir : Pati, 13 Februari 1997
Alamat Asal : Kuniran RT. 002/001,
 Batangan, Pati, Jawa Tengah
Alamat Tinggal : Jl. Mojo 2 No. 425
 Gondokusuman,
 Yogyakarta
Email : hasanah970213@gmail.com
No. HP : 082138364510



PENDIDIKAN FORMAL

Tahun		Nama	Jurusan	Lokasi
Masuk	Keluar	Institusi		
2003	2009	SD N 03 Kuniran	-	Jawa Tengah
2009	2010	Diniyah Ula Mathali'ul Falah	-	Jawa Tengah
2010	2013	MTs. Mathali'ul Falah	-	Jawa Tengah
2013	2016	MA. Mathali'ul Falah	-	Jawa Tengah
2016	2020	UIN Sunan Kalijaga	S-1 Biologi	Yogyakarta

PENGALAMAN

Februari 2018 – Maret 2018

**Pengambilan Data Pendidikan Lanjut Calon Anggota BIOLASKA/
Jatimulyo, Girimulyo, Kulon Progo**

“Inventarisasi Herpetofauna di Kawasan Jatimulyo, Girimulyo, Kulon Progo”

Januari 2019 – Februari 2019

Praktik Kerja Lapangan / Lab. Genetika Molekuler Hewan, LIPI Cibirong

“Identifikasi Haplotype Gen Cytochrome *b* pada Sapi Bali”

Februari 2019 – Juni 2020

**Asisten Praktikum / Lab. Integrated Fakultas Sains dan Teknologi UIN
Sunan Kalijaga Yogyakarta**

- Asisten praktikum struktur tumbuhan
- Asisten praktikum struktur tumbuhan
- Asisten praktikum biologi sel

ORGANISASI

Anggota Kelompok Studi Biologi Pecinta Alam Sunan Kalijaga (BIOLASKA)





STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA