

**KOMPOSISI MIKROBIOMA USUS PADA POPULASI
PENDUDUK DATARAN TINGGI PACET MOJOKERTO**

SKRIPSI



PRAMUDYA WISNU WICAKSONO SUGIYO

**PROGRAM STUDI S1-BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**KOMPOSISI MIKROBIOMA USUS PADA POPULASI
PENDUDUK DATARAN TINGGI PACET MOJOKERTO**

SKRIPSI



PRAMUDYA WISNU WICAKSONO SUGIYO

PROGRAM STUDI S1-BIOLOGI

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

UNIVERSITAS AIRLANGGA

2022

i

**KOMPOSISI MIKROBIOMA USUS PADA POPULASI PENDUDUK
DATARAN TINGGI PACET MOJOKERTO
SKRIPSI**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo

NIM 081811433104

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Fatimah, S.Si., M. Kes.

NIP. 197410152002122001

Pembimbing II,



Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc.

NIP. 198607252019083101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Komposisi Mikrobioma Usus pada Populasi Penduduk Dataran

Tinggi Pacet Mojokerto

Penyusun : Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo

Nomor Induk : 081811433104

Tanggal Ujian : 12 Mei 2022

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Dr. Fatimah, S.Si., M. Kes.

NIP. 197410152002122001

Pembimbing II,

Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc.

NIP. 198607252019083101

Mengetahui,

Ketua Departemen Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.

NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo

NIM : 081811433104

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Universitas : Airlangga

Jenjang : Strata I (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**KOMPOSISI MIKROBIOMA USUS PADA POPULASI PENDUDUK
DATARAN TINGGI PACET MOJOKERTO**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 21 Mei 2022



Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo

NIM. 081811433104

Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo, 2022, **Komposisi Mikrobioma Usus pada Populasi Penduduk Dataran Tinggi Pacet Mojokerto**, Skripsi ini di bawah bimbingan Dr. Fatimah, S.Si, M. Kes. dan Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi mikrobioma usus pada populasi Dataran Tinggi Pacet, Mojokerto, Jawa Timur, serta korelasinya dengan pola makan, usia, dan jenis kelamin dari probandus. Sampel feses diambil dari probandus yang sehat, tanpa penyakit bawaan, berusia di antara 20-50 tahun, dan tidak mengonsumsi antibiotik selama 2 bulan sebelum pengambilan sampel. Probandus diwajibkan mengisi kuesioner wawancara, formulir kesediaan, dan formulir pola makan selama 7 hari. Sampel dikoleksi secara mandiri oleh probandus kemudian dilakukan ekstraksi DNA, pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA, PCR, elektroforesis DNA, dan analisis *metagenomics* menggunakan NGS. Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa komposisi mikrobioma usus didominasi oleh Bacteroidetes dan Firmicutes pada tingkat *phylum*, Bacteroidaceae dan Prevotellaceae pada tingkat *family*, dan *Prevotella copri* pada tingkat *species*. Frekuensi konsumsi sayuran berkorelasi positif dengan kelimpahan Bacteroidetes dan *Prevotella copri*, serta berkorelasi negatif dengan kelimpahan Actinobacteria, Ruminococcaceae, Coriobacteriaceae, dan nilai *alpha diversity*. Frekuensi konsumsi daging berkorelasi positif dengan kelimpahan Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, dan *Bacteroides fragili*, serta berkorelasi negatif dengan kelimpahan Succinivibrionaceae. Usia berkorelasi positif dengan kelimpahan Elusimicrobia. Probandus perempuan memiliki kelimpahan Bacteroidetes, Prevotellaceae, dan *Prevotella copri* yang lebih tinggi, namun perbedaan keanekaragaman mikrobioma usus keduanya tidak signifikan.

Kata Kunci: Mikrobioma usus, Populasi Dataran Tinggi, Pola makan, Usia, Jenis kelamin

Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo, 2022, **Gut Microbiome Profile of Highland Population from Pacet, Mojokerto, Indonesia**,, this thesis was supervised by Dr. Fatimah, S. Si, M. Kes. and Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Departement of Biology, Faculty of Science and Technology, University of Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the gut microbiome composition in the highland population of Pacet, Mojokerto, its correlation with diet, age, and gender. Fecal samples were collected from healthy proband without congenital disease, aged between 20-50 years, and did not consume antibiotics for 2 months prior sample collection. Probandus are required to fill out an interview questionnaire, a willingness form, and a dietary form for 7 days. Samples was collected independently by the probandus then processed for DNA extraction, DNA concentration and purity measurement, PCR, DNA electrophoresis, and metagenomics analysis using NGS. The results indicated that the gut microbiome composition was dominated by Bacteroidetes and Firmicutes at phylum level, by Bacteroidaceae and Prevotellaceae and family level, and by *Prevotella copri* at species level. Frequency of consuming vegetables was positively correlated with Bacteroidetes and *Prevotella copri* abundance, while negatively correlated with the abundance of Actinobacteria, Ruminococcaceae, Coriobacteriaceae and the diversity index. Meat consumption frequency was positively correlated with Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, and *Bacteroides fragili* abundance, while negatively correlated with Succinivibrionaceae abundance. Age was positively correlated with Elusimicrobia abundance. Female probands had higher Bacteroidetes, Prevotellaceae, and *Prevotella copri* abundance, but there was no significant difference regarding microbiome diversity between the two genders.

Key Words: Gut microbiome, Highland population, Consumption, Age, Gender.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala atas izin-Nya, skripsi yang berjudul “Komposisi Mikrobioma Usus pada Populasi Penduduk Dataran Tinggi Pacet Mojokerto” dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana S-1 Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Selain itu, skripsi ini disusun sebagai dasar kajian lebih lanjut mikrobioma usus manusia penduduk dataran tinggi di Indonesia. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Sehingga, penulis menerima segala kritik dan tanggapan yang membangun untuk perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat membantu semua pihak.

Surabaya, 21 Mei 2022

Penulis



Pramudya Wisnu Wicaksono Sugiyo

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT, Yang Maha Mengabulkan doa penulis sehingga skripsi berjudul **“Komposisi Mikrobioma Usus dari Populasi Penduduk Dataran Tinggi Pacet Mojokerto”** dapat diselesaikan tepat waktu dengan keadaan sehat wal afiat.

Kegiatan penelitian serta penyusunan skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan, kemudahan, dukungan moril dan materil dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Dr. rer. nat. Arif Luqman, S.Si., MT. selaku peneliti utama dan dosen penguji yang telah memberikan kesempatan dan motivasi kepada penulis untuk dapat menulis skripsi ini.
2. Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc. selaku peneliti dan pembimbing II, yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan arahan kepada penulis untuk dapat mengikuti kegiatan penelitian mulai dari pengambilan sampel hingga pada penulisan skripsi ini.
3. Dr. Fatimah, S.Si., M. Kes. selaku pembimbing I, yang telah membimbing dan mengarahkan penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Edy Setiti Wida Utami, M.S. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam menulis skripsi ini.
5. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M. Si. selaku Ketua Departemen Biologi, yang telah mendukung kelancaran penyelesaian skripsi ini.
6. Bapak Sugiyo, Ibu Masruroh Wadayanti, Irfan Wicaksono Sugiyo dan Andhika Wahyu Wicaksono Sugiyo selaku keluarga penulis, yang telah memberikan dukungan moril dan materil.
7. Sholikhah selaku penyemangat penulis, yang telah bersedia mendukung dan selalu memberikan semangat sebagai energi tambahan bagi penulis.

8. Didi Kempot atau yang dikenal dengan *The Godfather of Broken Heart*, atas lagu-lagunya yang selalu menemani penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh pihak yang telah membantu penelitian dan penulisan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Asumsi Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
1.6 Hipotesis Statistik.....	5
1.7 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Mikrobioma.....	6
2.2 Mikrobioma Manusia.....	6
2.3 Mikrobioma Usus Manusia.....	7
2.3.1 Pengaruh pola makan terhadap komposisi mikrobioma usus.....	8

2.3.2 Pengaruh usia terhadap komposisi mikrobioma usus.....	10
2.3.3 Pengaruh jenis kelamin terhadap komposisi mikrobioma usus.....	11
2.3.4 Faktor lain yang mempengaruhi mikrobioma usus.....	12
2.4 <i>Next-Generation Sequencing</i>	13
2.5 Aplikasi <i>Next-Generation Sequencing</i> dalam Analisis Mikrobioma Menggunakan Metode <i>Metagenomic analysis</i>	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.2.1 Alat.....	15
3.2.2 Bahan.....	15
3.3 Rancangan Penelitian.....	16
3.4 Prosedur Penelitian.....	16
3.4.1 Sterilisasi peralatan.....	16
3.4.2 Pemilihan probandus.....	17
3.4.3 Pengarahan, pendataan, dan wawancara probandus.....	17
3.4.4 Pencatatan pola makan harian dan koleksi sampel feses.....	18
3.4.5 Ekstraksi DNA.....	18
3.4.6 Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer nanodrop.....	20
3.4.7 <i>Polymerase chain reaction</i> (PCR)	21
3.4.8 Elektroforesis DNA.....	21
3.4.9 <i>Metagenomic library preparation</i> dan <i>sequencing</i>	22
3.5 Variabel Penelitian.....	22
3.6 Analisis Data (Analisis Bioinformatika)	23
3.7 Kerangka Operasional Penelitian.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Hasil.....	24
4.1.1 Hasil koleksi data diri dan kode sampel probandus.....	24

4.1.2 Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer nanodrop.....	25
4.1.3 Hasil visualisasi produk PCR melalui elektroforesis gel agarosa...	26
4.1.4 Hasil analisis <i>relative abundance</i> pada tingkat taksa <i>phylum</i> , <i>family</i> dan <i>species</i>	26
4.1.5 Hasil indeks diversitas Shannon-Wiener.....	30
4.1.6 Hasil <i>principal coordinate analysis</i>	31
4.1.7 Hasil uji normalitas.....	33
4.1.8 Hasil analisis korelasi pola makan terhadap indeks Shannon-Wiener.....	35
4.1.9 Hasil analisis korelasi usia terhadap indeks Shannon-Wiener.....	36
4.1.10 Hasil analisis korelasi pola makan terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia.....	37
4.1.11 Hasil analisis korelasi usia terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia.....	40
4.1.12 Hasil uji pengaruh jenis kelamin terhadap indeks Shannon-Wiener.....	43
4.1.13 Hasil uji pengaruh jenis kelamin terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia.....	44
4.2 Pembahasan.....	47
4.2.1 Data diri dan kode sampel probandus	47
4.2.2 Uji konsentrasi dan kemurnian DNA	48
4.2.3 Visualisasi produk PCR	49
4.2.4 Analisis <i>relative abundance</i> pada tingkat taksa <i>phylum</i> , <i>family</i> , dan <i>species</i>	50
4.2.5 Indeks diversitas Shannon-Wiener.....	52
4.2.6 <i>Principal coordinate analysis</i>	53
4.2.7 Uji normalitas.....	54

4.2.8 Analisis korelasi pola makan dan usia terhadap indeks Shannon- Wiener.....	54
4.2.9 Analisis korelasi pola makan dan usia terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia	55
4.2.10 Uji pengaruh jenis kelamin terhadap indeks diversitas Shannon- Wiener dan kelimpahan mikrobioma usus manusia	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Data olahan hasil kuesioner dan pemberian kode sampel probandus	24
4.2	Konsentrasi dan kemurnian DNA	25
4.3	Indeks Shannon-Wiener pada tingkat taksa <i>phylum</i> , <i>family</i> , dan <i>species</i> dari mikrobioma usus	31
4.4	Data uji normalitas	33
4.5	Korelasi pola makan terhadap indeks Shannon-Wiener	35
4.6	Korelasi usia terhadap indeks Shannon-Wiener	36
4.7	Korelasi pola makan terhadap kelimpahan mikrobioma usus Manusia	37
4.8	Korelasi usia terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia	40
4.9	Data analisis deskriptif uji pengaruh jenis kelamin terhadap indeks Shannon-Wiener	43
4.10	Korelasi jenis kelamin terhadap kelimpahan mikrobioma usus manusia	44

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Stacked bar plot komposisi mikrobioma usus dari sampel feses manusia	8
2.2	Korelasi antara asupan makanan berprotein dengan bakteri genus <i>Bifidobacterium</i>	9
2.3	Komposisi mikrobioma usus berdasarkan usia	11
2.4	Komposisi mikrobioma usus berdasarkan jenis kelamin	12
3.1	Skema proses ekstraksi DNA menggunakan kit <i>ZymoBIOMICSTM DNA Miniprep</i>	20
3.2	Kerangka operasional penelitian	23
4.1	Hasil elektroforesis DNA produk PCR 16S rRNA dari DNA yang diekstrak dari sampel feses	26
4.2	Grafik kelimpahan relatif mikrobioma usus pada tingkat takson <i>phylum</i>	27
4.3	Grafik kelimpahan relatif mikrobioma usus pada tingkat takson <i>family</i>	28
4.4	Grafik kelimpahan relatif mikrobioma usus pada tingkat takson <i>species</i>	29
4.5	<i>Principal coordinates analysis (PCoA)</i>	32

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1.	Kuesioner Wawancara Probandus
2.	Formulir Persetujuan dan Kesediaan Menjadi Probandus
3.	Formulir Pola Makan Harian
4.	Kelimpahan relatif <i>phylum</i> mikrobioma usus
5.	Kelimpahan relatif <i>family</i> mikrobioma usus
6.	Kelimpahan relatif <i>species</i> mikrobioma usus