

APLIKASI AMPLIFIED RIBOSOMAL DNA RESTRICTION ANALYSIS (ARDRA)
UNTUK MENGESAN MIKROORGANISMA DI DALAM SAMPEL
TANAH DARI KAWASAN AIR PANAS, PORING

MOHD HAFIZY BIN AHMAD SHATAR

DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN DALAM BIOTEKNOLOGI

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2004



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: APLIKASI AMPLIFIED RIBOSOMAL DNA RESTRICTION ANALYSIS(CARDRA) UNTUK MENGENAL MITROORGANISMA DI DALAM SAMPEL TANAH DARI KAWASAN AIR PANAS, PORING.Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIANSESI PENGAJIAN: 2000/2001Saya MOKD HAFIZY B. AHMAD SHATAR
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

Hafizy B. Ahmad Shatar

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: FLAT PEGAWAI,
PENJARA PUSAT SIBU, 96000,SIBU, SARAWAK.

Nama Penyelia

Tarikh: 12/3/04

Tarikh: _____

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

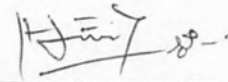
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

Mac 2004



MOHD HAFIZY BIN AHMAD SHATAR

HS 2000-4164

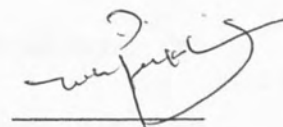


DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

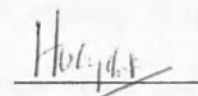
1. PENYELIA

(Miss Teoh Peik Lin)



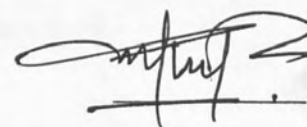
2. PEMERIKSA 1

(Prof. Dr. Ho Coy Choke)



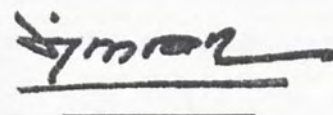
3. PEMERIKSA 2

(Dr. Vijay Kumar)



4. DEKAN

(Prof. Madya Dr. Amran Ahmed)



PENGHARGAAN

“Dengan Nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang”

Alhamdulillah, bersyukur saya kepada Allah S.W.T kerana dengan limpah kurnia dan izin-Nya dapat saya menyempurnakan disertasi ini dengan jayanya walaupun pelbagai dugaan dan halangan terpaksa saya tempuhi.

Setinggi-tinggi penghargaan dan ribuan terima kasih yang tidak terhingga saya tujukan kepada Ms. Teoh Peik Lin, selaku penyelia saya di atas segala tunjuk ajar, teguran dan bimbingan yang telah beliau berikan sepanjang disertasi ini disiapkan. Tidak ketinggalan juga kepada penyelaras disertasi Dr. Roziah Bt. Hj. Kambul serta pensyarah-pensyarah yang terlibat secara langsung atau tidak langsung.

Jutaan terima kasih kepada pihak Institut Penyelidikan Bioteknologi dan Sekolah Sains dan Teknologi kerana menyediakan peralatan dan kemudahan serta membenarkan saya menggunakannya. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada para pelajar Master Institut Penyelidikan Bioteknologi dan pelajar Master Bioteknologi yang banyak memberi tunjuk ajar dalam menjalankan ujikaji dan pengendalian peralatan di dalam makmal.

Sekalung budi saya tujukan buat ayah tercinta, En. Ahmad Shatar B. Khamis, ibu tersayang, Pn. Rokiah Bt. Mohd Amin dan ahli keluarga yang sentiasa memberi sokongan dan dorongan serta mendoakan kejayaan saya selama ini. Untuk saudari Ezlina Herdawati, terima kasih tidak terhingga diucapkan atas segala bantuan,



galakan, nasihat, kerjasama dan sokongan moral yang ditunjukkan. Tidak lupa kepada rakan-rakan yang banyak membantu, Fesster, Juanis, Nurul, Wee Theng, Alys, Yong, Akhtar, Sebastian, Hisyam, Amus, Along dan Gordon. Semoga kalian mendapat keberkatan dan kebahagiaan daripada-Nya.

Akhir sekali, terima kasih untuk semua yang terlibat secara langsung atau tidak langsung dalam memberi inspirasi sehingga saya dapat menjayakan disertasi ini. Semoga kalian mendapat rahmat daripada-Nya. Jasa kalian sentiasa dikenang.



ABSTRAK

Tujuan kajian ini dilakukan adalah untuk mengesan kehadiran komuniti mikroorganisma tanah dari kawasan air panas Poring. Pengekstrakan DNA dilakukan ke atas dua sampel tanah berjarak 1 m dan 5 m dari kawasan air panas dengan menggunakan protokol Saano dan Lindstrom (1995) yang telah diubahsuai dan *UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit* (Mo Bio Lab, USA). Didapati hasil ekstrak DNA menggunakan *UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit* lebih berkuantiti tinggi berbanding kaedah Saano dan Lindstrom. DNA yang diekstrak kemudian digunakan sebagai templat-templat untuk Tindakbalas Rantai Polimer (PCR) dengan menggunakan primer-primer degenerasi kerana keupayaannya menghasilkan fragmen-fragmen rDNA. Hasil produk PCR menunjukkan jalur DNA yang lebih banyak pada sampel tanah berjarak 5 m berbanding sampel tanah 1 m. Seterusnya jalur-jalur produk PCR dipotong dan dituliskan. Hasil penulenan produk PCR dilekatkan ke dalam vektor pCR 2.1 TOPO dan transformasi dilakukan ke dalam sel kompeten *E. coli*. Kemudian, pengekstrakan plasmid dilakukan dan penjujukan DNA dilakukan ke atas plasmid yang mempunyai saiz fragmen yang dimasukkan. Walaubagaimanapun, penjujukan tidak berjaya dilakukan berikutan kontaminasi yang berlaku pada plasmid DNA. Dari keputusan yang diperolehi, mikroorganisma pada sampel tanah tidak dapat dikenalpasti. Sekiranya penjujukan DNA berjaya dilakukan, pengenalpastian bilangan mikroorganisma yang dapat hidup di kawasan air panas dapat dilakukan.



ABSTRACT

This study was conducted to detect the presence of soil microorganism community from Poring Hot Springs. DNA extraction using a modified protocol of Saano and Lindstrom (1995) and *UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit* (Mo Bio Lab, USA) was performed on two soil samples of 1 m and 5 m from the hot springs area. The *UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit* showed higher DNA quantity than the Saano and Lindstrom method. The extracted DNA was then used as templates for Polymerase Chain Reaction (PCR) with degenerated primers which targeted rDNA regions. The PCR products showed that 5 m soil sample had more bands than 1 m soil sample. Subsequently, the bands were excised and purified. The purified PCR products were then ligated into pCR 2.1 TOPO vector and transformed into *E. coli* competent cells. Next, plasmid extraction was carried out, and the plasmids with correct insert size were sequenced. However, the sequencing was unsuccessful due to contamination in plasmid DNA. As a result, microorganism could not be identified. Nevertheless, if sequencing was successful, we could determine the number of microorganisms that can survive in the hot springs area.



KANDUNGAN

Muka Surat

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
SENARAI KANDUNGAN	viii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
SENARAI LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 PENGENALAN	1
1.2 OBJEKTIF KAJIAN	3
1.3 RASIONAL KAJIAN	3
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 TANAH	4
2.2 POPULASI TANAH	5
2.3 KEPELBAGAIAN MIKROBIAL TANAH	6
2.4 PEMENCILAN DNA MIKROORGANISMA TANAH	10
2.5 KEPENTINGAN KAJIAN MIKROBIAL TANAH	11
2.6 SEJARAH KAJIAN TANAH DAN MIKROORGANISMA TANAH	13
2.7 DNA RIBOSOM	14
2.8 PENCAPJARIAN GENETIK KOMUNITI-KOMUNITI MIKROBIAL	15
2.9 TINDAKBALAS RANTAI POLIMER (PCR)	18
2.10 KOLAM AIR PANAS PORING	20



BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	22
3.1 PENGAMBILAN SAMPEL	22
3.1.1 Kaedah Persampelan	22
3.2 PENGEKSTRAKAN DNA DARI SAMPEL TANAH	23
3.2.1 <i>UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit</i>	23
3.2.2 Pengekstrakan Secara Konvensional	25
3.2.3 Elektroforesis Gel Pengekstrakan DNA	26
3.3 TINDAKBALAS RANTAI POLIMER (PCR)	27
3.3.1 Elektroforesis Produk PCR	28
3.4 PENULENAN PRODUK PCR	29
3.5 PENYEDIAAN CAMPURAN TINDAKBALAS PENGKLONAN	30
3.6 TRANSFORMASI SEL KOMPETEN	31
3.7 PENGEKSTRAKAN PLASMID DNA	32
3.8 PENJUJUKAN DNA	33
BAB 4 HASIL DAN PERBINCANGAN	34
4.1 PENGEKSTRAKAN DNA	34
4.2 PRODUK PCR	37
4.3 PENULENAN PRODUK PCR	42
4.4 TRANSFORMASI SEL KOMPETEN	46
4.5 PENGEKSTRAKAN PLASMID DNA	48
4.6 PENJUJUKAN DNA	51
BAB 5 KESIMPULAN	53
RUJUKAN	55
LAMPIRAN A	62
LAMPIRAN B	63
LAMPIRAN C	64



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
2.1 Ringkasan kaedah pencapjarian genetik yang digunakan dalam kajian ekologi mikrobial.	17
4.1 Hasil penjujukan DNA.	52



SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka Surat
2.1	Diagram menunjukkan unit berulang rDNA.	15
4.1	Hasil pengekstrakan DNA secara konvensional bagi sampel tanah 1 m dan sampel 5 m.	35
4.2	Hasil analisis produk PCR berdasarkan kitaran PCR ditetapkan.	38
4.3	Hasil penulenan produk PCR.	
4.4	Transformasi vektor pengklonan sampel 1 m dan 5 m dengan sel <i>E. coli</i> kompeten.	46
4.5	Pengekstrakan plasmid sampel 1 m dan 5 m.	49



SENARAI SINGKATAN

ARDRA	Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis
DNA	Deoxyribonucleic Acid
rDNA	ribosomal Deoxyribonucleic Acid
%	Peratus
16S rRNA	16 Small ribosomal Ribo Nucleic Acid
C	Carbon
RNA	Ribonucleic Acid
Å	Armstrong
SSU	Small Subunit
LSU	Large Subunit
PCR	Polymerase Chain Reaction
bp	basepair
kb	Kilo basepair
°C	Darjah Celcius
g	Gram
ml	Mililiter
m	Meter
cm	Centi metre
µl	Mikroliter
mM	Mili Molar
Na ₂ HPO ₄	Natrium Hidrophosphate
SDS	Sodium Dodecyl sulfate
µg/ml	Mikro gram per mili liter



s	Saat
min	Minit
rpm	Revolution per minute



SENARAI LAMPIRAN

Muka Surat

A	Bahan bagi pengekstrakan DNA.	62
A	Bahan-bahan yang diguna semasa menjalankan kajian.	62
B	Larutan etBr, Gel agaros dan LB agar.	63
C	LB Broth.	64
C	Larutan bagi pengekstrakan plasmid.	64



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 PENGENALAN

Teknik *Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*, ARDRA merupakan analisa yang digunakan dalam mengesan mikroorganisma tanah, seterusnya mengkaji struktur, fungsi dan kepentingan mikroorganisma tersebut terhadap persekitaran dan manusia. Analisa ini melibatkan pengekstrakan fragmen ribosomal DNA dan kaedah ini pernah digunakan oleh Martinez-Murcia *et al.* (1995) bagi mengenalpasti kepelbagaian prokariot pada tasik *hypersaline*.

Dengan menggunakan sampel tanah yang diambil dari kawasan air panas Poring Ranau, teknik ARDRA ini digunakan bagi melihat kehadiran mikroorganisma tanah yang mungkin memberi kesan penyakit terhadap manusia dan mengkaji kemungkinan produk asli (*natural product*) yang dapat dihasilkan dari mikroorganisma tersebut. Kepentingan kepelbagaian mikroorganisma tanah adalah pada kebolehan mikroorganisma tertentu menghasilkan sejenis molekul dipanggil metabolit sekunder (*secondary metabolites*) yang berguna bagi menghasilkan produk



asli seperti antibiotik dan enzim yang sangat penting dalam industri perubatan, perindustrian dan pertanian (Osburne *et al.*, 2000)

Penggandaan fragmen rDNA dilakukan melalui Tindakbalas Rantai Polimerase (*Polymerase Chain Reaction-PCR*) dengan menggunakan primer degenarasi (*degenerate primer*) kerana keupayaannya. PCR sangat berguna di dalam bidang sains forensik dan diagnosis perubatan, di mana ia berupaya untuk bertindak bagi menggandakan molekul DNA yang terlalu sedikit diperolehi.

Proses elektroforesis gel agaros pula dilakukan bagi mengesan hasil dari proses ekstrak DNA dan PCR. Peratusan gel agaros yang digunakan menerangkan luas liang yang terhasil pada gel agaros bagi membenarkan molekul melaluinya. Jalur yang terhasil melalui tindakbalas elektroforesis ini, dapat dibandingkan dengan mana-mana DNA piawai bagi mengetahui bilangan pasangan bes yang terdapat pada sampel.

Dengan memperolehi DNA yang telah digandakan, pengklonan dilakukan menggunakan 'pCR[®] 2.1 TOPO Cloning'. Pengklonan dilakukan dengan memasukkan fragmen DNA yang diperolehi melalui PCR ke dalam plasmid. Pengekstrakan plasmid yang telah ditransformasi pula dijalankan bertujuan mendapatkan plasmid untuk dilakukan penjujukan DNA. Penjujukan DNA yang berjaya membolehkan pengenalpastian spesis mikroorganisma yang hadir pada sampel tanah diperolehi.



1.2 OBJEKTIF KAJIAN

Objektif kajian ini dilakukan ialah untuk meninjau pencapjarian DNA (*DNA fingerprinting*) bagi mikroorganisma yang hadir dalam komuniti tanah kawasan air panas dengan menggunakan kaedah ARDRA.

1.3 RASIONAL KAJIAN

Rasional kajian ini dilakukan ialah selain mengetahui teknik sedia ada bagi mengkaji mikroorganisma tanah, pengubahsuaian dan aplikasi teknik baru boleh dilakukan. Pengenalpastian mikroorganisma pada sampel tanah di kawasan air panas Poring adalah penting kerana melalui DNA yang diperolehi, mikroorganisma yang ditemui berkemungkinan mempunyai kepentingan pertanian, perubatan dan perindustrian dan seterusnya kajian lebih mendalam dapat dijalankan.



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 TANAH

Tanah merupakan satu daripada sumber penting bumi di mana di dalamnya terkandung nutrisi dan air bagi perkembangan tumbuhan, termasuk membekalkan keperluan makanan dan tempat berteduh bagi manusia (Glass, 1992). Pada zaman dahulu, apabila populasi dunia semakin meningkat, perluasan keperluan tanah untuk menghasilkan lebih banyak tanaman juga meningkat, di mana kepelbagaian tanaman baru ditemui dan penemuan bahan kimia sebagai baja mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Gray dan Williams, 1979).

Tanah juga menjadi tempat tinggal bagi kebanyakan mikroorganisma, yang mana ia penting kerana memberi kesan terhadap perubahan yang berlaku di persekitaran tanah itu sendiri di samping berpotensi menghasilkan metabolit sekunder dan seterusnya menghasilkan produk asli (Osburne *et al.*, 2000).



Tanah terdiri daripada campuran dinamik pelbagai saiz organik dan partikel mineral, organisma hidup, dan bahan mati, dan ia dijelaskan sebagai medium paling idea bagi mikrobiologi kompleks (Metting, 1985 ; Stotzky, 1972). Mengikut definisi, material partikel inorganik terdiri daripada fasa solid tanah mineral, dengan bahan organik kadangkala membekalkan lebih daripada 20-30%, kebiasaannya kurang daripada 5-20%, dan secara purata ialah kurang daripada 1% jumlah tanah (Brady,1984).

Penemuan baru kaedah bagi mengkaji kepentingan mikroorganisma tanah yang pelbagai, tetapi mungkin tidak boleh dikultur amat dihargai. Juga bagi mengenalpasti signifikan mikroorganisma terhadap tanah, keadaan semulajadi air dan mikrohabitat yang lain (Metting, 1993). Walaubagaimanapun, kajian mengenai mikroorganisma tanah ini agak rumit dijalankan kerana tanah merupakan persekitaran heterogeneous yang sukar dikaji di dalam makmal (Colwell *et al.* 1985), juga disebabkan mikroorganisma yang pelbagai yang membawa terlalu banyak transformasi kimia.

2.2 POPULASI TANAH

Manusia secara keseluruhannya bergantung kepada tanaman sebagai sumber makanan utama. Begitu juga haiwan. Kebanyakan tanaman bergantung kepada tanah, di mana dari tanah ia mendapat nutrisi mineral yang diperlukan yang mana ianya hadir dari tanaman yang mati, haiwan dan mineral batu (Clothier, 1997). Tanah dipopulasi oleh banyak organisma, termasuk haiwan dan mikroorganisma. Akan tetapi secara umumnya mikroorganisma memainkan peranan yang lebih penting dalam



menghasilkan mineral dan membekalkan karbon dioksida kepada perkembangan tumbuh-tumbuhan.

Antara perkara yang menjadi perhatian pada mikroorganisma tanah ialah kepelbagaiannya, di mana fungi, bakteria, aktinomiset, alga dan virus yang tergolong dalam genera dan spesies yang pelbagai, boleh didapati dari dalam sampel tanah. Bagi fungi, ia biasanya mendominasi tanah hutan berasid (Alexander, 1997 ; Stotzky, 1972) manakala bakteria biasanya di kawasan tanah berlumpur yang berpanjangan. Mikroorganisma perlu hidup dan berkeupayaan menyesuaikan diri dalam keadaan kuantiti makanan yang sedikit, dan tersebar di permukaan partikel tanah.

Selain itu, Gause mencadangkan bahawa apabila mikroorganisma berlainan spesies bersaing sesama mereka untuk satu kawasan tanah maka salah satu spesies mikroorganisma akan ditewaskan. Akan tetapi ini tidak bermaksud bahawa sesuatu kawasan tanah itu hanya mempunyai satu atau beberapa jenis organisma tertentu sahaja.

2.3 KEPELBAGAIAN MIKROBIAL TANAH

Dengan menerangkan konsep mengenai mikrop persekitaran (*microenvironments*) dan mikrohabitat dalam tanah, ini dapat membantu memperbaiki dan menjalankan praktikal biologi dengan lebih selamat. Mikroorganisma boleh dikelaskan mengikut fungsinya atau hubungan secara sistematik. Secara fungsi, mikrobial dikategorikan mengikut prinsip dari mana ia mendapatkan karbon (C) sebagai tenaga untuk meneruskan metabolisme, pertumbuhan dan pembiakan (Gunapala dan Scow, 1998).



Organisma mendapatkan tenaga samada dari cahaya matahari atau dari oksidasi (*oxidation*) molekul organik dan bukan organik yang berlaku.

Mineral tanah mengandungi eubakteria, archeobakteria, fungi dan yeast, mikroalga, protozoa, nematode, dan haiwan invertebrata (Gunapala dan Scow, 1998). Terdapat kehadiran organisma dalam bentuk yang bersaiz lebih besar berbanding mikroorganisma di mana ia dapat dilihat tanpa memerlukan bantuan mikroskop. Haiwan makroskopik, termasuk cacing tanah, arthropod, dan vetabrata lain sememangnya penting bagi biologi tanah, tetapi dalam skala signifikan yang besar berbanding mikrohabitat (Curl dan Harper, 1990) bilangan organisma dan pengumpulan biojisim adalah berbeza di dalam tanah lebih banyak berbanding tumbuhan makroskopik dan haiwan di sekitar makrohabitat.

Bakteria adalah minuskul organisma sel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya berkuasa tinggi (1000x) atau mikroskop elektron. Bakteria boleh berada dalam keadaan terlalu banyak di mana satu cubit tanah boleh mempunyai bermilion mikroorganisma (Tate, 1991). Bakteria dianggarkan berada di mana-mana sahaja di atas muka bumi ini dan juga boleh ditemui dalam jarak lebih satu batu (*mile*) ke dalam teras bumi.

Bakteria dapat diklasifikasikan kepada lima kumpulan berfungsi. Bakteria autotrophik, secara umumnya, berkeupayaan menghasilkan makanan sendiri, adalah bakteria fotosintetik. Bakteria ini adalah bakteria penghasil utama (*primary producers*). Bakteria pengurai (*decomposers*) menggunakan bahan organik, hasil buangan tumbuhan, dan kompaun ringkas, membebaskan nutrien ke dalam substan-



substans untuk digunakan oleh tumbuhan hidup. Bakteria mutualis (*mutualists*) seperti contoh bakteria *nitrogen-fixing*, akan bersama tumbuhan untuk membantu tumbuhan menyerap nutrien. Bakteria patogen adalah kumpulan bakteria yang memberi kesan negatif di mana ia boleh mengakibatkan penyakit kepada tumbuhan, haiwan dan manusia. Kumpulan terakhir merupakan kumpulan bakteria kemolitotrof (*chemolithotrophs*), yang mana bakteria ini secara umumnya adalah kumpulan bakteria pemakan bahan kimia dan batu. Bakteria kemolitotrof mendapatkan tenaga lebih daripada mineral berbanding daripada kompaun karbon.

Bakteria adalah penting pada kitaran karbon. Bakteria membekalkan karbon kepada sistem dengan melakukan fotosintesis secara berterusan dan melalui proses penguraian. Bakteria adalah pengurai terpenting di dalam persekitaran padang berumput. Bakteria kebiasaannya terdapat pada tanah, tetapi lebih mudah didapati dan berkumpul berhampiran akar pokok, sebagai punca makanan.

Aktinomiset adalah kumpulan yang lebih luas selain bakteria di mana ia membentuk filamen seakan gentian (*thread-like filament*) di dalam tanah (Tate, 1991). Aktinomiset juga berfungsi bagi membezakan tanah yang baru didedahkan dengan tanah yang masih lembap. Aktinomiset, meskipun pada keadaan yang kurang sesuai seperti pada keadaan pH tanah yang tinggi, memberi kesan terhadap penguraian penurunan (*breaking down*) bahan seperti selulosa yang mana selulosa membentuk dinding sel bagi tumbuhan dan juga kitin yang membentuk dinding sel bagi fungi (Metting, 1993). Aktinomiset membentuk perlekatan bersama sesetengah tumbuhan bukan leguminous (spesis penting seperti *bitterbrush*, *mountain mahogany*, *cliffrose*, dan *ceanothus*).



Sesetengah aktiviti pengurusan, terutamanya yang mengakibatkan perubahan tahap nutrien di dalam tanah, berupaya menukar kedominan pengurai bakteria kepada fungi. Apabila sesuatu kumpulan dominan di mana ia tidak sepatutnya wujud, maka di situ juga sebenarnya berlaku penukaran (*shift*) pada sistem tersebut. Penukaran dari bakteria kepada pendominan fungi boleh menggalakkan keadaan pertumbuhan rumput liar (*weed*) dalam sesuatu kawasan.

Bakteria juga penting bagi kitaran nitrogen. Bakteria bebas hidup, dan berupaya menyesuaikan diri pada atmosfera bernitrogen, membuatkan pengumpulan nitrogen pada tanah meningkat (Parsons *et al.*, 1991). Sesetengah bakteria *nitrogen-fixing* didapati melekat kepada akar tumbuhan leguminous seperti *lupine*, *clover*, *alfalfa*, dan *milkvetches*.

Sesetengah tanah bernitrogen adalah tidak sesuai bagi tumbuhan sehinggalah terdapat bakteria yang menukarkannya kepada keadaan tanah yang mudah diadaptasi tumbuhan. Sesetengah bakteria membebaskan bahan melekit yang membantu partikel-partikel tanah kecil membentuk agregat kecil. Selain daripada bersaiz kecil, ia juga membantu memperbaiki daya ketembusan (*alter infiltration*) terhadap air, kapasiti ketahanan air, stabiliti tanah dan kegelinciran (Clothier *et al.*, 1997).

Terdapat juga bakteria tanah yang memberi kesan negatif iaitu sebagai organisma patogen (Dommergues, 1978). Hasil daripada ini ialah usaha pengekalan sistem yang baik supaya bakteria yang berguna dapat menjalankan fungsinya dengan baik. Bakteria menjadi lebih penting dalam pengubahsuaian biologi (*bioremediation*), yang mana membolehkan manusia menggunakan bakteria untuk menguraikan bahan



RUJUKAN

- Alexander M., 1977. *Introduction to Soil Microbiology*, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
- Alexander M., 1984. *Biological Nitrogen Fixation: Ecology, Technology and Physiology*. Plenum Press, New York.
- Amann R.I., Ludwig W. dan Schleifer K.H., 1995. *Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells Without Culturing* *Microbiol Rev* **59** : 143-169.
- Atlas R.M., dan Bartha R., 1993. *Microbial Ecology: Fundamental and Applications*, 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., Redwood City.
- Alias A. 1990. Kajian Awal Kepelbagaian Haiwan Arthropoda di Kaki Hutan Tropika Poring, Ranau, Sabah. UKM Kampus Sabah, Sabah.
- Baros J.A., dan Deming J.W., 1983. *Growth of "BlackSmoker" Bacteria at Temperatures of at Least 250 °C*. *Nature (London.)* **303** : 423-426.
- Brady N.C. dan Weil R.R., 1999. *The Nature and Property of Soils*. ms 881. Prentice Hall, New Jersey.
- Brady N.C., 1984. *The Nature and Properties of Soils*, 9th ed. Macmillan, New York.



Brock T.D., 1967. *Life at High Temperatures. Science.* 158 : 1012, 1019.

Brock T.D., 1978. *Thermophilia Microorganisms and Life at High Temperature.* Springer – Verlag, New York.

Chanapan S., Kanokratana P., Eurwilaichitr dan Pootanakit K., 2000. *Assessing Microbial Diversity from Borklueng Hot Spring, Ratchaburi.* Institutes of Molecular Biology and Genetics, Mahidol University, Thailand.

Clothier B.E. dan Green S.R., 1997. *Roots: The Big Movers of Water and Chemical in Soil.* Soil science.

Colwell R.R., Brayton P.R., Roszak D.B., Huq S.A. dan Palmer L.M., 1985. *Viable But Non – Culturable Vibrio Cholerae and Related Pathogens in The Environment: Implications for Release of Genetically-Engineered Microorganisms.* *Biotechnology.* 3 : 817-820.

Curl E.A. dan Harper J.D., 1990. *Fauna-Microflora Interactions In the Rhizosphere.* John Wiley & Sons, New York, ms 369-388.

Dommergues Y.R., 1978. *The Plant – Microorganism System. In Interactions Between Nonpathogenic Soil Microorganisms and Plants.* Elsevier Scientific Publishing, New York, ms 1-37.



Edward K., Johnstone C. dan Thompson C., 1991. *A Simple and Rapid Method for The Preparation of Plant Genomic DNA for PCR Analysis*. *Nucleic Acid Research*.

Erlich H.A., 1989. *PCR Technology : Principles and Applications for DNA Amplification*. Stosckon Press, New York.

Gamborg O.L. dan Phillips G.C., 1997. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture and Fundamental Method*. Springer Laboratory Manual.

Glass D.J. dan Lindeman J., 1992. *Biotechnology in Agriculture: The Next Decade*. Decision Resources Inc., Burlington, Mass.

Gray T.R.G. dan Williams S.T., 1979. *Soil Microorganisms*. Longman Group Limited, New York.

Gunapala N. dan Scow K.M., 1998. Dynamics of Soil Microbial Biomass and Activity in Conventional and Organic Farming Systems. *Soil Biol. Biochem*, **30** : 805-816.

Holding A.J. dan Jeffrey D.C., 1968. *Effects of Metallic Ions on Soil Bacteria*. In : *The Ecology of Soil Bacteria*. Liverpool University Press, Liverpool. ms 516-530.



- Hugenholtz P., Pitulle C., Hershberger K.L. dan Pace N.R., 1998. *Novel Division Level Bacterial Diversity in A Yellowstone Hot Spring*. Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, California. 180 : 2.
- Ingham E., 1998. *The Soil Biology Primer, Soil Bacteria*. USDA, Natural Resources Conservation Service, Soil Quality Institute.
- Itam S. dan Hazli A.M., 1991. *Konsep Genetik. Ed ke-2*, Dewan Bahasa Dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Kennedy A.C. dan Papendick R.I., 1995. *Microbial Characteristics of Soil Quality*. Journal of Soil and Water Conservation, **50** : 243-248.
- Liu W.T., Marsh T.L., Cheng H. dan Forney L.J., 1997. *Characterization of Microbial Diversity by Determining Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism of Genes Encoding 16S rRNA*. Appl Environment Microbiol **63** : 4516-4522.
- MacKenzie D.R. dan Henry S.C., 1991. *Biological Monitoring of Genetically Engineered Plants and Microbes*. Agriculture Research Institute, Bethesda, Md.
- Maloy S.R., Cronan Jr. J.E. dan Freitfelder D., 1994. *Microbial Genetics*. 2nd Ed. London.



- Martinez-Murcia A.J., Acinas S.G., dan Rodriguez-Valera F., 1995. *Evaluation of Prokaryotic Diversity by Restrictase Digestion of 16S rDNA Directly Amplified From Hypersaline Environments*. FEMS Microbiol Ecol. 17 : 247-256.
- Metting B., 1985. *Soil Microbiology and Biotechnology*. In *Biotechnology: Applications and research*. Marcel Dekker, New York, ms 257-293.
- Metting F.B., 1993. *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Muyzer G., 1998. *Structure, Function and Dynamics of Microbial Communities: The Molecular Biological Approach*. *Advances in Molecular Ecology*, IOS Press, Amsterdam. ms. 87-117.
- Muyzer G., De Waal E.C. dan Uitterlinden A.G., 1993. *Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-amplified Genes Encoding for 16S rRNA*. Appl. Environ. Microbiol. 59 : 695-700.
- Osburne M.S., Grossman T.H., August P.R. dan Macneil A., 2000. *Tapping Into Microbial Diversity for Natural Products Drug Discovery*. University of Wisconsin. ARIAD Pharmaceuticals Inc.



- Parsons L.L., Murray R.E. dan Smith M.S., 1991. *Soil Denitrification Dynamics: Spatial and Temporal Variations of Enzyme Activity, Populations, and Nitrogen Gas Loss*. Soil Sci. Soc. Am. J. **55** : 90-95.
- Rose E.A., 1991. *Application of PCR to Genome Analysis*. FASEB Journal. **22** : 87-90.
- Roszak D.B. dan Colwell R.R., 1987. *Survival Strategies of Bacteria in The Natural Environment* Microbiol. Rev. **51**: 365-379.
- Rothwell N.V., 1993. *Understanding Genetics A Molecular Approach*. Willey Liss, New York.
- Saano A. dan Lindstrom K., 1995. *Small Scale Extraction of DNA From Soil With Spun Column Cleanup*. Department of Applied Chem,istry and Microbiology. University of Helsinki, Finland.
- Salleh A., Singhal V. dan Arora C.K., 1995. *Recent Advances In Cell Biology*. Anmol, New Delhi. **4** : 60-62.
- Staley J.T. dan Konopka A., 1985. *Measurement of In Situ Activities of Nonphotosynthetic Microorganisms in Aquatic and Terrestrial Habitats* Annu. Rev. Microbiol. **39** : 321-346.



- Stotzky G., 1972. *Activity, Ecology and Population Dynamics of Microorganisms in Soil*. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* **2** : 59-137.
- Tate R.L., 1991. *Microbial Biomass Measurement in Acidic Soils: Effects of Fungal : Bacterial Activity Ratios and Soil Amendment*. *Soil Sci.* **152** : 220-225.
- Tiedje J.M., Colwell R.K., Grossman Y.L., Hodson R.E., Mack R.N. dan Regal P.J., 1989. *The Planned Introduction of Genetically Engineered Organisms : Ecological Consideration and Recommendations*. *Ecology* **70** : 297-315.
- Van C., Watanabe B. dan Hove V., 1993. *Genetic Diversity and Phylogeny Analysis of Azolla Based on DNA Amplification By Arbitrary Primer*. *Genome*. ms 133.
- Vastava, S. dan Tyagi R., 1994. *Recent Advances in Genetics*. Anmol, New Delhi.
- Vollmer A.T., Au A. dan Bamberg S.A., 1977. *Observations on The Distribution of Microorganisms in Desert Soil*. *Great Basin Naturalist* **37** : 81-86.
- Weaver R.F. dan Hendrick P.W., 1997. *Genetics*. 3rd Ed. Mc Graw-Hill, New York..
- Whitman W. B., Coleman D.C. dan Wiebe W.J., 1998. *Perspective. Prokaryotes : The Unseen Majority*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **95**: 6578-6583.

