

**IDENTIFIKASI BAKTERI KITINOLITIK DI DAERAH RAWA
PANTAI PADANG BERDASARKAN ANALISIS SEKUENS
GEN 16S-rRNA**

OLEH

CUT ANDESTI

05112004

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Pertanian**



**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

IDENTIFIKASI BAKTERI KITINOLITIK DI DAERAH RAWA PANTAI PADANG BERDASARKAN ANALISIS SEKUENS GEN 16S-rRNA

ABSTRAK

Penelitian dengan judul “ Identifikasi Bakteri Kitinolitik di Daerah Rawa Pantai Padang Berdasarkan Analisis Sekuens Gen 16S-rRNA”, telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang dari bulan Desember 2009 sampai Februari 2010. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan koleksi isolat-isolat bakteri yang mempunyai aktivitas kitinolitik yang berasal dari rawa Pantai Padang dan menentukan identitas spesies bakteri kitinolitik terpilih menggunakan data sekuens gen 16S-rRNA.

Isolat bakteri dikoleksi dari dua lokasi yaitu rawa Pantai Bungus dan rawa Pantai Pasir Jambak Padang. DNA genomik diisolasi dengan prosedur berdasarkan metode Jeff Newman. Amplifikasi *in-vitro* menggunakan kombinasi Primer 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1525R (5'-AAGGAGGTGWTCARCC-3'). Sekuensing dilakukan secara *one direction* menggunakan Primer 1525R. Isolat yang disekuens adalah empat isolat bakteri kitinolitik terpilih, dua isolat diantaranya mewakili indeks kitinolitik tinggi dan dua isolat mewakili indeks kitinolitik rendah. Penentuan identitas bakteri dilakukan dengan mengakses database publik NCBI menggunakan analisis BLAST. Penentuan studi kekerabatan dilakukan dengan menggunakan program CLUSTALW versi 1.8.

Hasil penelitian berhasil memperoleh delapan isolat bakteri yang berpotensi kitinolitik dari dua lokasi pengambilan sampel. Data hasil analisis BLAST dari 4 isolat bakteri kitinolitik terpilih menunjukkan kelompok: *Enterobacter* sp TUT139, *Enterobacter aerogenes* strain WAB 1906, *Acinetobacter* sp TK006 dan *Bacillus cereus* strain CA15. Bakteri yang berpotensi kitinolitik tertinggi pada pengamatan selama 10 hari adalah *Bacillus cereus* strain CA15. Berdasarkan Analisis kekerabatan genetik bakteri kitinolitik dengan menggunakan program CLUSTALW versi 1.8 terbentuk tiga kelompok besar pada derajat ketidaksamaan 0,00.

Kata kunci : Bakteri kitinolitik, gen 16S-rRNA, rawa pantai Padang

I. PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Saat ini lahan pertanian di Indonesia untuk budidaya tanaman semakin sempit. Hal tersebut dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya banyak yang dimanfaatkan untuk perindustrian dan bangunan jasa. Disisi lain, lahan rawa yang ada di Indonesia diperkirakan mencapai 33,4 juta ha. Sekitar 60 % (20 juta ha) diantaranya merupakan lahan rawa pantai atau rawa pasang surut dan 40 % selebihnya (13,4 juta ha) adalah lahan rawa non pasang surut. Hasil survey tahun 1994 menjelaskan bahwa, kurang dari 50 % yaitu seluas 9 juta ha dari lahan rawa pantai mengidentifikasi potensial untuk pengembangan pertanian (Suriadikarta dan Sutriadi, 2007). Dengan demikian lahan pertanian untuk budidaya tanaman berpotensi diterapkan ke daerah rawa pantai tersebut.

Lahan rawa pantai dengan kondisi lingkungan yang marginal, dengan tingkat salinitas yang tinggi, sulit dimanfaatkan untuk budidaya tanaman. Tanaman tidak dapat beradaptasi terhadap lahan salin. Penggunaan teknik rekayasa genetika, memungkinkan untuk menghasilkan tanaman-tanaman yang toleran terhadap lahan salin sehingga tanaman dapat beradaptasi terhadap lahan bereaksi salinitas. Berkaitan dengan hal tersebut maka dibutuhkan sumber-sumber gen adaptif yang antara lain dapat diperoleh dari mikroorganisme adaptif di lahan salin.

Mikroorganisme-mikroorganisme tersebut biasanya diperoleh dari lokasi dengan kondisi lingkungan yang bersifat salin, seperti lahan pantai. Mikroorganisme tersebut biasanya bersifat kitinolitik, karena secara umum potensi ketersediaan senyawa kitin banyak ditemukan dari limbah laut seperti hewan invertebrata berkulit keras (*Crustaceae*).

Manfaat lain dari mikroba yang bersifat kitinolitik tersebut adalah sebagai pengendali hayati jamur penyebab penyakit pada tanaman. Dampak dari serangan jamur terhadap tanaman sangat banyak salah satunya adalah produksi dari lahan pertanian akan menurun sehingga menyebabkan nilai ekonomi dari suatu produk akan menurun. Oleh sebab itu dilakukanlah pengendalian terhadap jamur penyebab penyakit pada tanaman secara alami dengan melakukan perakitan tanaman yang toleran terhadap jamur, dengan bantuan enzim kitinase yang dihasilkan oleh

bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik mempunyai kemampuan dalam mendegradasi dinding sel jamur, yang penyusun utamanya adalah kitin. Dengan demikian bakteri kitinolitik berpotensi sebagai pengendali alami jamur patogen berdinding sel kitin. Adanya aktifitas tersebut, maka diharapkan dapat menghambat pertumbuhan dari jamur patogen pada tanaman dan pada akhirnya jamur patogen dapat dikendalikan.

Akhir-akhir ini, *kitinase* kembali menjadi perhatian karena adanya kemungkinan penggunaannya dalam pengendalian biologi organisme yang mengandung kitin seperti jamur. Pengendalian hayati jamur dengan menggunakan mikroorganisme kitinolitik didasarkan pada kemampuan mikroorganisme menghasilkan *kitinase* dan β -1,3-*glucanase* yang dapat melisis sel jamur. Kemampuan bakteri kitinolitik dari bakteri *Aeromonas caviae* telah digunakan untuk mengendalikan beberapa jamur patogen tanaman. Galur *Serratia marcescens* telah dimanfaatkan untuk mengendalikan jamur patogen seperti *Sclerotium rolfsii* (Munir, 2006).

Sumber penyebaran dari bakteri kitinolitik ini terdapat pada beberapa tempat antara lain : pada tanah dan air di daerah rawa pantai, pada air laut, pada perakaran tanaman dan tempat ekstrim seperti kawah gunung dan sumber air panas serta berbagai tempat lain yang dianggap berpotensi untuk tumbuhnya bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik ini telah banyak diteliti di Indonesia, yaitu dalam pemanfaatannya sebagai pengendali hayati serangan jamur terhadap tanaman.

Berbagai hasil penelitian telah banyak diketahui berbagai keanekaragaman dan variasi spesies-spesies bakteri dengan aktivitas kitinolitik masing-masing dari berbagai habitat ataupun tempat isolat-isolat bakteri itu sendiri diambil. Namun sampai saat ini upaya yang ditujukan untuk meningkatkan kemampuan aktifitas kitinolitik belum banyak dilakukan. Apalagi upaya rekayasa secara genetik sampai saat ini belum banyak dipublikasikan. Oleh sebab itu pada tahap awal dari kegiatan peningkatan kemampuan aktifitas kitinolitik, perlu dilakukan identifikasi isolat-isolat koleksi yang diperoleh.

Teknik untuk menganalisis adanya keragaman genetik pada suatu populasi organisme baik tumbuhan, hewan, mikroba dan sebagainya telah berkembang dengan pesat. Awalnya dimulai melalui aksesi terhadap variasi morfologi, fisiologi maupun biokimiawi. Bahkan saat ini dengan perkembangan teknik analisis

BAB V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Dari serangkaian penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Diperoleh 8 isolat bakteri kitinolitik yang berasal dari daerah rawa Pantai Bungus Padang dan Pantai Pasir Jambak Padang. Berdasarkan 8 isolat bakteri kitinolitik, dipilih 4 isolat yang mewakili indeks kitinolitik tinggi dan indeks kitinolitik rendah.
2. - Data hasil analisis BLAST dari 4 isolat bakteri kitinolitik terpilih yang mewakili 2 isolat dengan indeks kitinolitik tinggi diidentifikasi sebagai *Bacillus cereus* strain CA15 dan *Enterobacter* sp.TUT1390 dan 2 isolat yang mewakili indeks kitinolitik rendah diidentifikasi sebagai *Acinetobacter* sp. TK006 16S dan *Enterobacter aerogenes* strain WAB 1906.
- Berdasarkan hasil yang didapatkan dari analisis BLAST, ada 2 jenis bakteri yang berhasil diidentifikasi sampai ke level spesiesnya yaitu *Enterobacter aerogenes* strain WAB 1906 dan *Bacillus cereus* strain CA15, dan 2 jenis bakteri lagi berhasil diidentifikasi sampai ke level Genusnya saja yaitu *Acinetobacter* sp. TK006 16S dan *Enterobacter* sp.TUT1390.

5.2 Saran

Untuk mendapatkan informasi identitas dan kekerabatan genetik suatu organisme yang lebih akurat, maka dalam analisis BLAST dan analisis kekerabatan genetik disarankan menggunakan entry data sekuens yang lebih panjang, sehingga dapat diperoleh informasi yang lebih akurat dan tepat. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan dua primer sekaligus dalam proses sekuensing secara dua arah (*bi directional*) sehingga data sekuens yang dihasilkan lebih panjang dan informasi identitas suatu organisme yang didapatkan lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agriwibawa, M. 2004. Deteksi dan Analisis Sekuens Gen Inhibitor Proteinase pada Beberapa Klon Kakao Harapan tahan Penggerek Buah Kakao dari Sulawesi Selatan. Fakultas Pertanian dan Kehutanan. Bogor. Menara Perkebunan, 72(1), 1-10.
- Ali, I. 2008. Pertumbuhan Bakteri dan suhu. <http://www.iqbalali.com> [10 Maret 2010].
- Azhar, M. 2000. Dideoxy-Sanger, Suatu Metoda Penentuan Urutan Nukleotida DNA. J. Eksakta 2 (1) : 68-80.
- Boel, T. 2004. Morfologi Bakteri pada Infeksi Saluran Kemih dan Kelamin. <http://www.library.usu.ac.id> [3 Mei 2010].
- Braun-Howland, E.B., S.A. Danielsen, and S.A. Nierzwicki-Bauer. 1992. Development of a rapid method for detecting bacterial cells *in situ* using 16S rRNA-targeted probes. Biotechniques, 13:928-933.
- CLUSTALW 1.83. 2009. <http://www.Genebee.msu.su/clustal/advanced.html> [20 Januari 2010].
- [DKP] Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2003. Perkembangan ekspor komoditi hasil perikanan Indonesia 1998-2002. <http://www.resources.unpad.ac.id> [27 Juni 2009].
- Fauzi, S. 2009. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri. <http://www.ckmon-saurus.blogspot.com> [10 Maret, 2010].
- Feliatra, E.I dan Suryadi, E. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Natur Indonesia 6(2): 75-80.
- Ferniah, R.S dan Purwantisari, S. 2008. Karakterisasi Sifat Biokimia Hasil Penapisan Isolat Bakteri Kitinolitik. <http://www.syair79.files.wordpress.com> [27 Juni 2009].
- Hidayat, I. 2005. Pengaruh pH terhadap Aktivitas *Endo-1,4-b-Glucanase Bacillus* sp. AR 009 6(4):244-246.
- Hidayat, P., Dewi S., Sri H.. 2004. Kajian Ciri Morfologi dan Molekuler Kutukebul (Homoptera : Aleyrodidae) Sebagai Dasar Pengendalian Penyakit Geminivirus pada Tanaman Sayuran. Jurnal Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Institut Pertanian Bogor. <http://www.web.ipb.ac.id> [27 Oktober 2009].