

**IDENTIFIKASI BAKTERI SELULOLITIK DARI PELAPUKAN
BAHAN ORGANIK BERDASARKAN ANALISIS SEKUENS
GEN 16S rRNA**

OLEH

**SELVI ELVIA
05112030**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

IDENTIFIKASI BAKTERI SELULOLITIK DARI PELAPUKAN BAHAN ORGANIK BERDASARKAN ANALISIS SEKUENS GEN 16S rRNA

ABSTRAK

Penelitian dengan judul "Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Pelapukan Bahan Organik Berdasarkan Analisis Sekuens Gen 16S rRNA", telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas Padang dari bulan Juli sampai Oktober 2009. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan koleksi isolat bakteri yang mempunyai aktivitas selulolitik yang tinggi dan menentukan identitas spesies bakteri tersebut dengan menggunakan data sekuens gen 16S rRNA.

Isolat bakteri selulolitik dikoleksi dari 3 lokasi yaitu Hutan Wisata Bunga Raflesia Palupuh, Cagar Alam Rimbo Panti dan Tempat Pembuangan Akhir (TPA) rumah tangga Kapalo Koto kota Padang. Sampel material untuk isolasi DNA diperoleh dari 5 isolat bakteri selulolitik yang mempunyai indeks aktivitas selulolitik tertinggi. Kelima isolat tersebut seluruhnya berasal dari bakteri hasil isolasi dari tanah pembuangan akhir rumah tangga Kapalo Koto. 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 di PT, Charoen Phokphand Indonesia (CPI) secara *one direction* menggunakan primer 1525R. Penentuan identitas bakteri selulolitik terpilih dilakukan dengan mengakses database pada database publik NCBI menggunakan analisis BLAST.

Hasil penelitian berhasil memperoleh 45 isolat bakteri yang berpotensi selulolitik dari 3 lokasi penelitian. Data hasil analisis BLAST dari 5 isolat bakteri yang mempunyai indeks aktivitas tertinggi termasuk kedalam 2 genus bakteri, yaitu Genus *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp. P85 dan *Pseudomonas putida* strain ZFJ-9) dan Genus *Bacillus* (*Bacillus*. Sp.00763, *Bacillus cereus* strain RMLA VI dan *Bacillus* sp. BSRA4). Sedangkan bakteri yang berpotensi selulolitik tertinggi adalah bakteri *Bacillus*. sp BSRA4.

Kata kunci : Bakteri Selulolitik, Gen 16S rRNA, Rimbo Panti, Bahan Organik, Sekuens

I. PENDAHULUAN

Sampah merupakan konsekuensi dari adanya aktivitas manusia. Jumlah atau volume sampah sebanding dengan tingkat konsumsi kita terhadap barang atau material yang kita gunakan sehari-hari. Setiap orang dalam aktivitas sehari-hari menghasilkan sampah sebanyak 0,5 kg/hari yang sebagian besar (75-95%) merupakan sampah organik (Sudradjat, 2007).

Salah satu cara untuk mengurangi penumpukan sampah adalah dengan melakukan pengomposan secara alami. Pada umumnya mikroba dapat tumbuh pada bahan organik tersebut, tetapi hanya sebagian saja yang mampu menghidrolisis selulosa alami. Beberapa mikroba terutama dari kelompok bakteri memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Perolehan mikroba selulolitik yang mampu menghasilkan aktivitas selulase yang tinggi menjadi sangat penting untuk tujuan pengomposan limbah organik.

Bakteri selulolitik merupakan golongan bakteri yang mempunyai kemampuan memecah atau mendegradasi molekul-molekul selulosa kompleks menjadi monomer – monomer gula sederhana, seperti glukosa dan yang lainnya. Golongan bakteri yang telah banyak dilaporkan sebagai kelompok bakteri selulolitik adalah dari genus *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acidothermus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cellvibrio*, *Cytophaga* dan *Lactobacillus* (Wizna, 2007).

Mekanisme kerja dari bakteri selulolitik dalam memecah selulosa adalah dengan jalan memutuskan atau memecah ikatan beta-1,4-glikosida menjadi monomer-monomer glukosa. Produksi enzim selulase diinduksi oleh selobiosa atau sophorosa yang berasal dari selulosa melalui aktifitas enzim selulase dan beta-galaktosidase yang berasosiasi dengan aktifitas enzim transglukosidase, dan dibawah pengaturan represi katabolik oleh selulosa (Habazar dan Rivai, 2007).

Penelitian tentang bakteri selulolitik telah banyak dilakukan oleh peneliti, baik di Indonesia maupun di luar negeri. Pemanfaatan bakteri tersebut pada proses pengomposan dan penyediaan pupuk hayati dari bahan-bahan organik, serta pemanfaatannya dalam mempercepat proses penyediaan ransum atau pakan ternak. Selain itu, penelitian tentang penggunaan enzim selulase sebagai elisitor

menunjukkan hasil yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi alkaloid kinolin dari akar rambut tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) (Mathius *et al.*, 2006).

Dari berbagai hasil penelitian tersebut telah banyak diketahui berbagai macam keanekaragaman dan variasi spesies-spesies bakteri dengan aktivitas selulolitiknya masing-masing dari berbagai habitat ataupun tempat isolat-isolat bakteri itu diambil. Sayangnya sampai saat ini upaya yang ditujukan untuk meningkatkan kemampuan aktivitas selulolitik belum banyak dilakukan. Apalagi upaya rekayasa secara genetik sampai saat ini belum banyak dipublikasikan. Dalam kaitan tahap awal dari kegiatan peningkatan kemampuan aktivitas selulolitik, maka perlu dilakukan identifikasi variasi isolat koleksi.

Teknik untuk menganalisis adanya keragaman spesies pada suatu populasi organisme, baik tumbuhan, hewan, mikroba dan sebagainya telah berkembang dengan pesat. Dimulai pada awalnya melalui akses terhadap variasi morfologi, fisiologi maupun biokimiawi. Bahkan saat ini dengan perkembangan teknik analisis molekuler berbasis DNA, maka teknik untuk mengakses variasi spesies organisme menjadi lebih beragam dengan berbagai macam tingkat akurasi maupun sensitifitasnya. Salah satunya adalah dengan teknik analisis sekuensing. Teknik tersebut dapat memberikan informasi identitas spesies secara akurat melalui informasi susunan basanya. Dari informasi tersebut nantinya kita akan mengetahui dengan pasti spesies bahkan strain dari isolat bakteri yang terpilih dengan bantuan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (Jamsari, 2007).

Materi untuk analisis sekuensing dapat diperoleh dari berbagai lokasi spesifik, yang salah satunya adalah dari gen 16S rRNA. Kemampuan analisis menggunakan gen 16S rRNA untuk membuat hubungan filogeni antar organisme telah banyak dilaporkan (Braun-Howland, 1992). RNA ribosomal merupakan molekul yang telah terevolusi diantara organisme hidup. Molekul ini bersifat homolog baik secara fungsional ataupun evolusinya pada organisme yang berbeda, dan merupakan molekul yang strukturnya terkonservasi. Molekul tersebut berada dalam jumlah besar di dalam sel sehingga mudah diisolasi dari berbagai organisme. Disamping itu ukuran sekuennya cukup besar untuk

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Diperoleh 45 koleksi isolat bakteri selulolitik dengan rincian pada daerah Hutan wisata bunga Rafflesia diperoleh 9 isolat. Pada daerah Cagar Alam Rimbo Panti diperoleh 17 isolat dan pada daerah penumpukan sampah rumah tangga Kapalo Koto diperoleh 19 isolat.
2. Data hasil analisis BLAST dari 5 isolat bakteri selulolitik terpilih menunjukkan kelompok Genus *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp. P85 dan *Pseudomonas putida* strain ZFJ-9) dan Genus *Bacillus* (*Bacillus* Sp.00763, *Bacillus cereus* strain RMLA VI dan *Bacillus* sp. BSRA4), dimana dari kelima isolat tersebut yang mempunyai potensi selulolitik tertinggi adalah *Bacillus* sp. BSRA 4.

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, yang dapat disiasati dengan melakukan kegiatan sekuensing secara dua arah (*bi read direction*) menggunakan kedua primer yang digunakan dalam proses amplifikasi sehingga dapat diperoleh informasi yang lebih akurat dan tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd Ed. John Willey and Sons. New York chicester. Brisbane toronto.
- [Anonim]. 2009. Bahan Organik. <http://www.SitusHijau.co.id> [10 Januari 2010].
- . 2009. Dampak Negatif Limbah Sampah Terhadap Lingkungan dan Pemanfaatannya. <http://www.dephut.go.id> [08 Juli 2009].
- Arotupin, D.J. 2007. Evaluation of Microorganism from Cassava Waste Water for production of Amylase and Cellulase. *Research Journal of microbiology* 2 (5) : 475-480
- Azhar, M. 2000. Dideoxy-Sanger, suatu metoda penentuan urutan nukleotida DNA. *J.Eksakta* 2 (1) : 68-80.
- Belozersky, A.N. 1965. Genebee – molecular Biology Server. <http://www.Genebee.msu.su/clustal> [20 Desember 2009]
- Bennet, J. 1993. Maps and markers. P.7-13. In *Genome Analysis of Plants, Pest and Pathogens. Workshop Handbook*, Central Research Institute for Food crops Bogor, Indonesia 14-16 June 1993. IRRI Manila.
- 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.
- Darussalam, R. 2007. Karakterisasi Morfologi Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum annum*) dan seleksi primer RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) untuk studi kekerabatan. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Feliatra, Efendi, I dan Suryadi, E. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *J. Natur Indonesia* 6(2): 75-80.
- Habazar, T dan Rivai, F. 2007. *Bakteri Patogenik Tumbuhan*. Andalas University Press : Padang
- 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://web.ipb.ac.id>. [25 Mei 2009]