



**UNIVERSITAS
MUHAMMADIYAH
BANDUNG**
Islamic Technopreneur University

JSTE

.....
Journal of Science, Technology,
and Entrepreneurship

Analisis Filogenetik Bakteri Indigen Penghasil Senyawa Siderofor Dari Rizhosfer Padi Sebagai Agen Pupuk Hayati Berdasarkan Gen 16S rRNA

Nelis Hernahadini¹, Muhammad Fauzi², Nisa Ihsani³

Universitas Muhammadiyah Bandung

Jalan Soekarno Hatta 40292 Bandung Jawa Barat,

e-mail: ¹nelis.hernahadini@umbandung.ac.id, ²muhammad.fauzi@umbandung.ac.id, ³nisa.ihsani@umbandung.ac.id

Abstrak

Pencarian isolat bakteri yang mampu memperbaiki kualitas tanah yang kurang baik menjadi alternatif agen pupuk berbasis agen biologi. Ditemukan 3 bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa siderofor yang digunakan untuk meningkatkan fertilitas tanah. Analisis filogenetik terhadap ketiga isolat dilakukan untuk mengetahui identitas bakteri siderofor tersebut berdasarkan DNA barcoding gen 16s rRNA. Proses analisis dilakukan dengan membandingkan sekuen DNA pada basic data di lama NCBI menggunakan program BLAST. Kemudian dilakukan multipel pairwise terhadap semua sekuen sampel dan referensi dan tahap rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode neighbor-joining dengan model kimura 2 parameter pengulangan bootstrap 1000 kali. Hasil Analisis filogenetik menunjukkan bahwa bakteri siderofot yang berasal dari Tasik memiliki kekerabatan terdekat dengan bakteri *Burkholderia* sp. strain DBD1 dengan nilai bootstrap 64%. Sekuens yang berasal dari Garut memiliki kekerabatan terdekat dengan *Chryseobacterium* sp. strain Ppi2-ST-2 dengan nilai bootstrap 81%, sedangkan strain bakteri yang berasal dari Cianjur memiliki kekerabatan paling dekat dengan *Bacillus magaterium* strain PHB 06 dengan nilai bootstrap sebesar 88%.

Kata kunci: siderofor, bakteri, filogenetik, 16s rRNA, identifikasi.

Abstract

Exploration for bacterial isolates that capable to improve soil quality is an alternative to biological agent-based fertilizer agents. Found three bacteria that have the ability to produce siderophore compounds that are used to increase soil fertility. Phylogenetic analysis of the three isolates was carried out to determine the identity of the siderophore bacteria based on DNA barcoding the 16s rRNA gene. The analysis process was made by comparing DNA sequences to data base in NCBI using the BLAST program. Then multiple pairwise were carried out on all sample sequences and references and the phylogenetic tree reconstruction stage was carried out using the neighbor-joining method with 2-parameter kimura model of bootstrap 1000 times. The results of phylogenetic analysis showed that siderofor bacteria originating from Tasik have the closest relationship with *Burkholderia* sp. DBD1 strain with a bootstrap value of 64%. Sequences originating from Garut have the closest relationship with *Chryseobacterium* sp. Ppi2-ST-2 strain with a bootstrap value of 81%, while the bacterial strain originating from Cianjur has the closest relationship with *Bacillus magaterium* strain PHB 06 with a bootstrap value of 88%.

Keywords: siderofor, bacteria, filogenetic, 16s rRNA, identification.

1. PENDAHULUAN

Eksplorasi mikroorganisme yang digunakan untuk meningkatkan kesuburan lahan suboptimal menjadi salah satu cara memperbaiki kualitas tanah yang kurang baik untuk lahan pertanian. Pemanfaatan mikroorganisme yang berasal dari lahan yang subur bisa dijadikan agen biologi yang

potensial sebagai komponen pupuk hayati. Bakteri siderofor mampu menekan perkembangan bakteri patogen, dan memiliki peran sebagai PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) yang mampu merangsang pertumbuhan tanaman melalui mineralisasi unsur hara [1]. Identifikasi suatu spesies menjadi tahapan penting untuk dilakukan dalam konservasi dan pengelolaan populasi [2].

Identifikasi dengan DNA Barcoding dapat dilakukan dalam mengidentifikasi spesies dengan tingkat akurasi yang tinggi [3][4][5]. Gen 16s rRNA merupakan bagian lestari (conserved region) sehingga dapat digunakan sebagai DNA Barcoding untuk metode identifikasi mikroorganisme secara molekuler. Urutan sekuens pada gen 16s rRNA dapat digunakan sebagai data untuk menentukan taksonomi, hubungan kekerabatan atau evolusi (filogenetik) dan dapat memperkirakan keragaman jarak antar spesies [6]. Filogenetik molekuler merupakan teknik yang mengkombinasikan metode molekuler dan statistik dalam menentukan hubungan kekerabatan secara evolusi antar organisme atau gen menggunakan struktur dan fungsi molekul beserta informasi perubahannya terhadap waktu. Filogenetik molekuler digunakan sebagai pendekatan untuk membandingkan susunan gen atau genom antar organisme terutama untuk membandingkan urutan DNA yang belum diketahui identitasnya [7].

2. METODE PENELITIAN

Bahan penelitian berupa sekuens gen 16s rRNA dari 3 isolat bakteri siderofor yang berasal dari daerah persawahan di daerah Garut, Tasik dan Cianjur.

Pencarian Urutan DNA Referensi.

Fragmen gen 16S rRNA dari isolat bakteri dilakukan contig menggunakan software Bioedit. Urutan fragmen kemudian diidentifikasi dengan cara membandingkan urutan DNA sampel terhadap database DNA yang tersedia di lama NCBI (www.NCBI.nlm.nih.gov) menggunakan program BLAST (Basic Local Analysis Sequence Tools). Kemudian dipilih 3 sekuens referensi yang memiliki persentase identitas yang beragam.

Konstruksi Pohon Filogenetik

Semua urutan DNA sampel dan referensi disejajarkan menggunakan metode multiple sequence alignment menggunakan clustal W. Dan Pohon filogenetik dirancang menggunakan metode neighbourjoining dengan bootstrap 1000 kali. Konstruksi pohon filogenetik menggunakan perangkat lunak MEGA XI [8].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua sekuens isolat bakteri siderofor dilakukan penyejajaran. Hasil penyejajaran sekuens sampel menggunakan program BLAST menunjukkan bahwa sampel yang berasal dari Tasik memiliki kemiripan urutan DNA dengan kelompok bakteri Burkholderia dengan tingkat homologi diatas 99%. Kemudian Untuk sampel yang berasal dari Garut diperoleh kesamaan dengan bakteri kelompok Chryseobacterium dengan persentase homologi dari 96%-97%. Sampel bakteri yang berasal dari Garut memiliki kesamaan urutan dengan kelompok bakteri Priestia dan Bacillus dengan tingkat homologi 99%. Dari hasil BLAST diambil 3 sekuens referensi yang memiliki kemiripan beragam dari mulai yang paling tinggi, sedang dan rendah (Tabel 1). Menurut Sanjaya dkk [9] hasil analisis BLAST dengan nilai homologi sebesar 99-100% menunjukkan spesies yang sama, sementara isolat dengan homologi dibawah 99% umumnya diduga sebagai spesies yang berbeda.

Tabel 1. Hasil analisis BLAST sekuens gen 16s rRNA bakteri siderofor pada database NCBI

No	Strain	Sekuen Referensi	% identity	Acc Number
1		Burkholderia sp. strain DBD1	99.43%	MK248594.1
2	Tasik	Paraburkholderia caribensis strain DSM 13236	99.36%	OQ568649.1
3		Burkholderia caribensis strain CACua-186	99.01%	HQ023274.1
4		Chryseobacterium hagamenense strain SCLZ17	97.66%	JN999928.1
5	Garut	Chryseobacterium sp. strain Ppi2-ST-2	97.83%	OP393761.1
6		Chryseobacterium defluvii strain EAPL06	96.81%	JX500178.1
10		Priestia aryabhatai strain MMI12B	99.58%	OP935896.1
11	Cianjur	Bacillus magisterium strain PHB 06	99.58%	MZ542333.1
12		Priestia megaterium strain PB3	99.37%	OM033601.1

4. KESIMPULAN

Tiga isolat bakteri siderofor teridentifikasi memiliki tingkat homologi diatas 97% dengan isolate referensi pada bank data gen NCBI. Setiap isolat dilakukan analisis kekerabatannya menggunakan pohon filogenetik dan diperoleh bahwa isolate bakteri dari Tasik memiliki hubungan kekerabatan paling dekat dengan *Burkholderia* sp. strain DBD1 , sekuens yang berasal dari Garut memiliki kekerabatan terdekat dengan *Chryseobacterium* sp. strain Ppi2-ST-2 sedangkan isolate dari Cianjur memiliki kekerabatan paling dekat dengan *Bacillus magisterium* strain PHB 06 .

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Wang, Yihan, et al. "A Potential Biofertilizer—Siderophilic Bacteria Isolated From the Rhizosphere of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*." *Frontiers in Microbiology* 13 (2022).
- [2] Shen, Y., Guan, L., Wang, D., and Gan, X, "DNA Barcoding and Evaluation of Genetic Diversity in Cyprinidae Fish in the Midstream of the Yangtze River, Ecology and Evolution, 6(9), 2702-2713, 2018.
- [3] Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W., and Jianjun, W, "DNA Barcoding for Identification of Fish Species in the Taiwan Strait. PLoS ONE, 13(6), 1-13, 2018.
- [4] Saleky, D., dan Dailami, M, " Konservasi Genetik Ikan Kakap Putih (*Latescalcarifer*, Bloch, 1790) Melalui Pendekatan DNA Barcoding dan Analisis Filogenetik di Sungai Kumbe Merauke Papua". *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(2), 141-150, 2021.
- [5] R Sianturi , M Dailami , dan D Saleky, "Identifikasi Dan Analisis Filogenetik Ikan Ekonomis Penting *Oreochromis* Sp. Dengan Pendekatan Dna Barcoding", *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, Vol. 9, No. 2, Page, 465-476, 2021. DOI : <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v9i2.4027>.
- [6] S Noer, "Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA," *EduBiologia Journal*, Vol. 1 No. 1 pp 1-6, 2021. Doi: 10.26539/edubiologia.v1i1.8596.
- [7] Yang, Ziheng dan Bruce Rannala. 2012. *Molecular Phylogenetics: Principles and Practice*. *Nature Reviews Genetics* 13: 303- 314.
- [8] M.U.K. Agung, A.Tri Askar , Y Andriani, "Identifikasi molekuler berbasis marka gen 16s rrna terhadap Bakteri *coliform* terkultur yang disiolasi dari foraminifera Jenis *calcarina* asal perairan pulau pramuka, Kabupaten Kepulauan Seribu, DKI Jakarta.", *Jurnal Harpodon Borneo*, Vol. 13. No. 1, 2020. DOI: 10.35334/harpodon.v13i1.
- [9] I.N.Sujaya., K.A. Nocianitri., NPD Aryantini., W Nursini , Y Ramona, Y Orikasa, F Kenji , T Urashima , Y Oda, "Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Segar Sapi Bali," *Jurnal Veteriner*, Vol. 17 No. 2 : 155-167, 2016. DOI: 10.19087/jveteriner.2016.17.2.155
- [10] Tamura, Koichiro, Daniel Peterson, Nicholas Peterson, Glen Stecher, Masatoshi Nei, dan "MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Tersedia: <http://www.megasoftware.net/manual.pdf>. Diakses 10 Juli 2023.
- [11] Hillis, M. D and Bull, J.J (1993) An Emprical Test of Bootstrapping As A Method For Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. *Syst.Biol.* 42(2): 182-192