

SCHIZOTIPE *AseI* BEBERAPA ISOLAT BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK ASAL ESTUARIN

Iman Rusmana* dan Tri Widiyanto**

*Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, IPB

**Puslitbang Limnologi, LIPI, Cibinong

ABSTRAK

Schizotipe adalah pola pita fragmen DNA hasil *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) DNA genom bakteri yang dipotong oleh enzim restriksi pemotong jarang. Kondisi PFGE dengan waktu pulsa 10 - 100 detik, Voltase 5,4 V/cm², suhu 14 C, dan waktu 18 merupakan kondisi yang cukup optimal untuk memisahkan fragmen-fragmen DNA tersebut.

Sebagian besar isolat BFA yang dianalisa, secara genetik berbeda, hanya ada 3 isolat yang herdasarkan schizotipenya identik/sama yaitu isolat IR12, IR13, dan IR18. Berdasarkan jumlah fragmen DNANYA, pada umumnya (sembilan isolat) terdapat sebanyak 11 sampai 12 fragmen.

Kata kunci : *Schizotipe, bakteri fotosintetik anoksigenik, PFGE*

PENDAHULUAN

Schizotipe adalah pola pita fragmen DNA hasil PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*) DNA genom bakteri yang dipotong oleh enzim restriksi pemotong jarang. Pola pita tersebut sangat unik/khas untuk tiap galur bakteri.

Teknik schizotipe hasilnya lebih diskriminatif dibandingkan teknik ribotyping, serotyping, plasmidtyping, phagotyping, uji biokimia dan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Gordillo *et al*, 1993; Poh *et al*, 1992; Howard *et al*, 1992; Saulinier, 1993). Oleh karena itu teknik ini sering digunakan untuk membandingkan antar galur bakteri, diantaranya untuk membedakan galur-galur bakteri *Listeria monocystis*, *L. inovii*, *L. seeligeri* (Howard *et el*, 1992), *Nesseria gonorrhoeae* (Poh dan Lau, 1993), *Lactococcus* (Tanskanen *et al*, 1990), *Staphylococcus* (Snopkova *et al*, 1994), dan *Xanthomonas campestris* pv *glycines* (Rukayadi, 1995).

Suwanto dan Kaplan (1989) menggunakan enzim restriksi *AseI*, *SpeI*, *DraI* dan *SnaBI* untuk memetakan genom *Rhodobacter sphaeroides* 241. Berdasarkan jumlah dan ukuran fragmen DNA yang dihasilkan, pemotongan

menggunakan enzim restriksi *AseI* lebih baik karena hasilnya lebih mudah dipisahkan dan diamati. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan enzim restriksi *AseI* untuk memotong DNA genom isolat-isolat bakteri fotosintesis anoksigenik hasil isolasi.

BAHAN DAN METODE

Suspensi bakteri disiapkan dengan cara menumbuhkan isolat BFA dalam medium cair SWC 100 % selama 5 - 7 hari . Satu mili liter suspensi dibuat sisipan gel untuk diisolasi genomnya dan didigesti dengan enzim restriksi *AseI*.

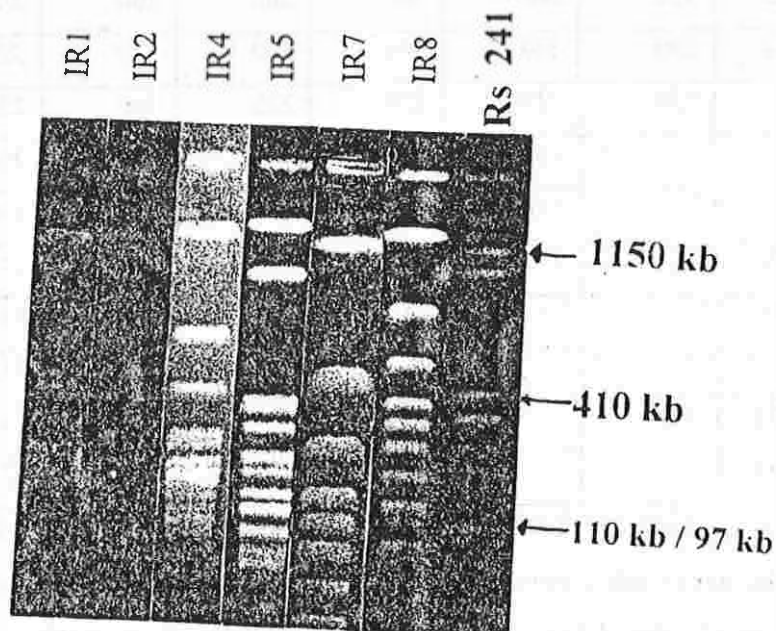
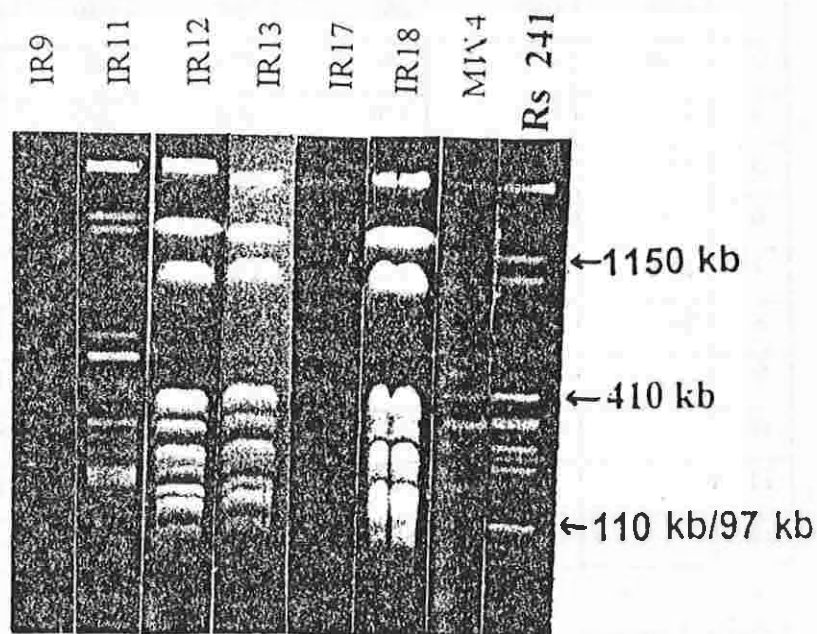
Gel agarose untuk running gel dibuat dengan melarutkan 1 gram agarose ke dalam 100 ml 0,5 X Buffer TBE (Tris-Borat-EDTA). Sisipan gel dimasukkan ke dalam sumur sumur gel dan celah yang masih tampak ditutup dengan LMA 1,5 %.

Pemisahan potongan DNA genom dilakukan dalam piranti PFGE menggunakan buffer 0,5 X TBE dengan tegangan listrik 5,4 volt/cm², suhu 14° C, dan waktu pulsa *ramping* 10 - 100 detik selama 18 jam. Gel hasil elektroforesis setelah distaining dengan EtBr dan didestaining dengan akuades, diamati dengan UV transiluminator dan difoto dengan kamera polaroid. Jumlah pita dan ukuran fragmen DNA di tentukan berdasar standar ukuran DNA dan jarak migrasi dari fragmen-fragmen DNA masing-masing.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Enzim restriksi *AseI* berasal dari *Aquaspirillum serpens* dan termasuk enzim yang memotong jarang terutama untuk bakteri-bakteri yang mempunyai persen G+C tinggi. Bakteri ungu nonsulfur mempunyai persen G+C yang cukup tinggi yaitu antara 62 sampai 72 % (Brock dan Madigan, 1991). Enzim restriksi *AseI* mempunyai situs pemotongan pada sekuen 5' ... A T[^]T A A T...3' cukup baik digunakan untuk memotong DNA genom utuh isolat-isolat BFA. Kondisi PFGE dengan waktu pulsa 10 - 100 detik, Voltase 5,4 V/cm², suhu 14 C, dan waktu 18 merupakan kondisi yang cukup optimal untuk memisahkan fragmen-fragmen DNA tersebut. Hal ini terlihat dari jumlah dan distribusi pita-pita fragmen DNA yang dihasilkan trelatif mudah diamati sehingga dapat digunakan untuk menentukan

keragaman dari isolat-isolat BFA tersebut (Gambar 1). Jumlah dan ukuran fragmen DNA dari isolat-isolat BFA hasil elektroforesis yang berhasil diamati dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Foto Polaroid Schizotipe-*AseI* Isolat Isolat BFA

Tabel 1. Jumlah dan Ukuran Fragmen DNA dari Isolat BFA yang Teramati.

No	Ukuran Fragmen DNA (kb)					
	IR1	IR2	IR4	IR5	IR7	IR8
1	1150	1150	1180	1450	1150	1450
2	640	640	860	400	640	670
3	360	430	540	370	430	480
4	290	370	420	310	370	390
5	210	310	410	260	310	310
6	150	260	360	160	260	270
7	140	160	310	150	160	160
8	84	150	300	140	150	150
9		140	250	84	140	140
10		84	240	71	84	84
11		71	220	67	71	71
12		67	160		67	

Tabel 1. Lanjutan.

No	Ukuran Fragmen DNA (kb)						
	IR9	IR11	IR12	IR13	IR17	IR18	MW4
1	1450	1150	1450	1450	1360	1450	1220
2	650	920	850	850	780	850	500
3	420	360	380	380	360	380	350
4	290	300	300	300	350	300	160
5	230	210	220	220	300	220	140
6		160	160	160	210	160	90
7		140	150	150	160	150	84
8		84	140	140	155	140	71
9		71	84	84	150	84	
10			71	71	140	71	
11			69	69	84	69	
12			67	67		67	

Dari 13 isolat BFA yang dianalisa terlihat bahwa sebagian besar isolat berbeda, hanya ada 3 isolat yang berdasarkan schizotipenya identik/sama yaitu isolat IR12, IR13, dan IR18. Sepuluh isolat lainnya menunjukkan perbedaan secara

genetik. Berdasarkan jumlah fragmennya, pada umumnya (sembilan isolat) terdapat sebanyak 11 sampai 12 fragmen yang teramati. Ada tiga isolat yang terdiri dari delapan fragmen DNA yaitu isolat IR1, IR11, dan MW4, dan hanya ada satu isolat yang hanya terdiri dari 5 fragmen DNA yaitu isolat IR9. Banyaknya fragmen DNA menunjukkan banyaknya situs pemotongan enzim restriksi *AseI* atau sekuen 5'....ATTAAT...3' pada genom bakteri tersebut.

KESIMPULAN

Enzim restriksi *AseI* cukup baik digunakan untuk memotong DNA genom utuh isolat-isolat BFA. Kondisi PFGE dengan waktu pulsa 10 - 100 detik, Voltase 5,4 V/cm², suhu 14 C, dan waktu 18 merupakan kondisi yang cukup optimal untuk memisahkan fragmen-fragmen DNA genom BF A.

Sebagian besar isolat BFA yang dianalisa, secara genetik berbeda, hanya ada 3 isolat yang berdasarkan schizotipenya identik/sama yaitu isolat IR12, IR13, dan IR18. Berdasarkan jumlah fragmen DNANYa, pada umumnya (sembilan isolat) terdapat sebanyak 11 sampai 12 fragmen.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. and R. Bartha. 1987. Microbial Ecology, Fundamental and Aplication. The Benjamin/Cumming Publ. Co. California.
- Brock,T.D. and M.T. Madigan. 1991. Biology of Microorganisms. Prentice Hall. New Jersey.
- Fuhrman,J.A., K. Mc Callum, and A.A. Davis. 1993. Phylogenetic diversity of surface marine microbial communities from the Atlantic and Pacific oceans. Appl. Environ. Microbiol. 59:1294-1302
- Lee, J.K. and S. Kaplan. 1992. Moleculer genetic of elements involve in oxygen and light control of *puc* operon transcription in *Rhodobacter sphaeroides*. J. Bacteriol. 174:1505-1514.
- Mandelstam, J., J. K. Mc Quillen and I. Dawes. 1986. Biochemistry of Bacterial Growth. Blackwell Scientific Publication. Oxford.

- Neidle, E.L. and S. Kaplan. 1993. Expression of the *Rhodobacter sphaeroides* *hemA* and *hemT* genes, encoding two amino levulinic acid synthase isozyme. J. Bacteriol. 173:2292-2303.
- Overman, J., S. Lehmann and N. Pfennig. 1991. Gas vesicle formation and buoyancy regulation in *Pelodyctyon phaeoclahtiforme* (green sulfur bacteria). Arch. Microbiol. 157:29-37.
- Pfennig, N. and H.G. Truper. 1989. Anoxygenic phototrophic bacteria. In J.T. Staley, M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt. Eds. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. William and Wilkins. Baltimore.
- Robert, G.P. and P.W. Ludden. 1992. Nitrogen fixation by photosynthetic bacteria. In G. Stacey, R.H. Burris, and H.J. Evans. Eds. Biological Nitrogen Fixation. Chapman and Hall Inc. USA. P. 135-165.
- Van Der Werf, M.J. and J.G. Zeikus. 1996. Amino levulinate production by *Eschechia coli* containing the *Rhodobacter sphaeroides* *hemA* gene. Appl. Environ. Microbiol. 62:3560-3566.
- Widiyanto, T. 1996. Bakteri Fotosintetik Anoksigenik sebagai Biokondisioner di Tambak Udang: Pengurangan produksi H₂S dan Pengaruhnya pada Pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Tesis S2 Program Pascasarjana IPB. Bogor.