

ANALISIS SIFAT GENETIK BAKTERI PEMBENTUK BINTIL AKAR TANAMAN KEDELE ASLI INDONESIA, *Sinorhizobium fredii*, J-TGS50

Setiyo Hadi Waluyo
Puslitbang teknologi Isotop dan Radiasi - Batan

ABSTRAK

ANALISIS SIFAT GENETIK BAKTERI PEMBENTUK BINTIL AKAR TANAMAN KEDELE ASLI INDONESIA, *Sinorhizobium fredii* J-TGS50. Telah dilakukan analisis sifat genetik bakteri *Sinorhizobium fredii*, J-TGS50 dengan metode biologi molekuler, Amplified Ribosomal DNA (16S rDNA dan 16S-23S rDNA) Restriction Analysis (ARDRA) dan pemetaan (sequencing) 16S rDNA. Lima strain bakteri *Sinorhizobium fredii*, yaitu USDA 192, USDA 201, USDA 205, USDA 206 dan USDA 217, digunakan sebagai pembandingan. Berdasarkan ARDRA, dengan 16S rDNA dan dengan 16S-23S rDNA, sifat genetik bakteri *S. fredii* J-TGS50 berbeda dengan 5 strain pembandingan yang digunakan. Tingkat kekerabatannya adalah sekitar 63 % pada ARDRA 16S-23S rDNA, sedangkan pada ARDRA 16S rDNA adalah sekitar 87 %. Susunan basa 16S rDNA dari *S. fredii* J-TGS50 juga menunjukkan perbedaan yang nyata dengan *S. fredii* yang telah ditemukan sebelumnya. Hal ini semakin mengukuhkan bahwa bakteri *S. fredii*, J-TGS50 tersebut adalah spesies baru dari bakteri *Sinorhizobium*. Berdasarkan hasil analisa secara biologi molekuler dan hasil uji kemampuan pembentukan bintil akar yang telah dilakukan sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa bakteri *S. fredii* J-TGS50 adalah asli dari Indonesia. Dengan menggunakan metode biologi molekuler telah menunjukkan bahwa keberadaan bakteri *S. fredii* adalah asli dari tanah Indonesia dan membuka peluang melakukan seleksi *Sinorhizobium* sebagai strain bakteri unggulan.

ABSTRACT

GENETIC CHARACTERS ANALYSIS OF AN INDONESIAN SOYBEAN NODULE FORMING BACTERIA, *Sinorhizobium fredii* J-TGS50. Amplified Ribosomal DNA (16S rDNA dan 16S-23S rDNA) Restriction Analysis (ARDRA) and sequencing of 16S rDNA were used to analyze genetic characters of *Sinorhizobium fredii* J-TGS50. *Sinorhizobium fredii*, strain USDA 192, USDA 201, USDA 205, USDA 206 and USDA 217 were used as references strains. Based on ARDRA either of 16S rDNA or of 16S-23S rDNA, showed that the genetic characters of *S. fredii* J-TGS50 was different with those of 5 references strains. The level of it kindship on ARDRA either of 16S rDNA and 16S-23S rDNA were 87 % and 63 % respectively. Based on comparison of the 16S rDNA sequences, the *S. fredii* J-TGS50 does not belong to the fast-growing soybean *sinorhizobia* reported earlier, and convincing a new *Sinorhizobium* species. Based on molecular biology analysis and earlier report of its symbiotic characters, it was concluded that *S. fredii* J-TGS50 was an indigenous strain from Indonesian soils. The availability of the molecular biology techniques has demonstrated the presence of the indigenous strain of *S. fredii* in Indonesian soil, and offers the selection of an superior *Sinorhizobium* strain.

PENDAHULUAN

Pengetahuan yang mendalam tentang jenis, aktifitas dan taksonomi bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele telah diperoleh dengan melalui serangkaian pendekatan secara biologi molekuler. Dari beberapa pendekatan yang telah dilakukan, pendekatan secara biologi molekuler telah mendorong terjadinya perubahan yang progresif dalam klasifikasi rhizobia tanaman kedele.

Bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele pertama kali dikenal sebagai *Rhizobium japonicum* (1), dan pada tahun 1982 telah berganti nama menjadi *Bradyrhizobium japonicum* (2). Seiring dengan ketersediaan metode biologi molekuler yang dapat menganalisis lebih detail dan teliti, taksonomi bakteri tersebut mengalami perubahan, seperti dengan telah diketemukannya *Sinorhizobium fredii* (3; 4); *Bradyrhizobium elkanii* (5); *Bradyrhizobium liaoningensis* (6) dan *Mesorhizobium thianshanense* (7).

Penemuan bakteri rhizobia yang dapat tumbuh cepat dari bintil akar tanaman kedele oleh Keyser *et al.* di China (3) telah memberikan perubahan yang dramatis pada taksonomi rhizobia untuk tanaman kedele. Bakteri pembentuk bintil akar tersebut sangat spesifik. Pertumbuhan dan sifat simbiosisnya bakteri baru sangat berbeda dengan *Bradyrhizobium*, bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele yang dikenal sebelumnya. Waktu yang diperlukan untuk tumbuh bakteri temuan baru tersebut jauh lebih pendek dari pada yang diperlukan oleh *Bradyrhizobium*. Pada media yang dianjurkan, pertumbuhan optimum bakteri tersebut dicapai pada hari ke 3, sedangkan untuk *Bradyrhizobium* adalah pada hari ke 7. Ditinjau dari sifat simbiosisnya, bakteri baru tersebut mampu membentuk bintil akar efektif hanya pada jenis tanaman kedele yang berasal dari Asia dan pada beberapa jenis tanaman kacang-kacangan selain tanaman kedele. Bakteri

tersebut oleh Scholla dan Elkan (4) diberi nama *Sinorhizobium fredii*.

Ilmu pengetahuan tentang bakteri tersebut masih terus berkembang sampai sekarang, akan tetapi di Indonesia justru yang terjadi adalah sebaliknya. Perkembangannya sangat lambat sehingga informasi yang tersedia menjadi sangat terbatas, padahal jenis bakteri tersebut telah digunakan sejak puluhan tahun yang lalu (8). Penggunaan bakteri tersebut saat ini masih sangat diperlukan di Indonesia, karena dengan penggunaan secara optimal dapat mengurangi ketergantungan tanaman kedele terhadap penggunaan pupuk anorganik yang sangat mahal. Pada tahun 2000, Waluyo *et al.* (9) telah berhasil mengisolasi bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele dari contoh tanah yang berasal dari Tongas, Indonesia. Dari hasil pemetaan DNANYA (16rDNA) bakteri tersebut termasuk dalam spesies *Sinorhizobium fredii*, sehingga diberi nama *Sinorhizobium fredii* strain J-TGS50. Dalam pengujian secara simbiosis menunjukkan bahwa *S.fredii* J-TGS50 berbeda dengan bakteri *Sinorhizobium fredii* yang diketemukan oleh peneliti sebelumnya. Waluyo (10) telah menyimpulkan bahwa bakteri *S.fredii* strain J-TGS50 adalah asli dari Indonesia. Oleh karena itu identifikasi lebih lanjut masih perlu dilakukan. Dengan menggunakan metoda biologi molekuler yaitu Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA, 11) dan sequencing gen 16S rDNA analisis sifat genetic bakteri *S.fredii* strain J-TGS50 dilakukan dalam penelitian ini.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi, di Universitas Wageningen, Wageningen, Nederland pada tahun 2000.

Pembiakan bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sinorhizobium fredii* J-TGS50 dari Indonesia dan *Sinorhizobium fredii* dari Amerika strain USDA 192, USDA 201, USDA 205, USDA 206 dan USDA 217. Bakteri tersebut dibiakkan dalam media cair Yeast Extract Mannitol (YEM) selama 4 hari. Sel bakteri dari koloni yang tumbuh pada Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA) dihitung dengan metode Drop Count. Jumlah sel bakteri sekitar 10^9 per ml larutan (12).

Isolasi genomik DNA

Empat ml biakan bakteri dimasukkan kedalam tabung dengan volume 10,0 ml dan diputar dengan Sentrifus dengan kecepatan 8000 rpm. Larutan bagian atas dibuang, kemudian ditambahkan 450 μ l larutan penyangga yang terdiri dari 1 mM Tris-HCl dan 0,1 mM EDTA

dengan pH = 7,4 dan mengandung 0,5 % SDS. Kemudian dikocok secara perlahan dalam "waterbath" dengan temperatur 37 °C selama 30 menit. Untuk mengekstrak DNA, larutan phenol dalam 10 mM Tris-HCl dan 1 mM EDTA dengan pH 7,0 dengan perbandingan volume 1:1 ditambahkan kedalam larutan tersebut. Ekstraksi dilakukan sekali lagi dengan menggunakan larutan campuran antara phenol dan chloroform. DNA dalam larutan diendapkan dengan menambahkan sodium acetate 3M, pH= 5,2 dengan perbandingan volume 0,1X (1 : 10) dan ethanol 90% (dingin -20 °C) dengan perbandingan volume 1X (1 : 1) dan diputar dengan Centrifuge. Larutan bagian atas dibuang, endapan DNA dikeringkan dan kemudian ditambahkan 50 μ L aquadest steril. Jumlah DNA yang diperoleh ditentukan dengan melakukan elektroforisa pada gel agarose 1 % yang mengandung Ethidium Bromide (pewarna). 0,1 μ g λ DNA yang dipotong dengan enzim HindIII (GibcoBRL Life Technology, Breda, The Netherlands) digunakan sebagai pembanding.

Amplifikasi DNA dengan ARDRA

Fragmen DNA ribosom diamplifikasi dengan menggunakan 1 set "primer" seperti pada Tabel 1 (13). Amplifikasi DNA ini menggunakan kira-kira 50 ng genomik DNA dalam 100 μ l larutan PCR dan dilakukan pada mesin PCR dengan merk UNOII Thermocycler, Biometra, Gottingen, Germany (11). Jumlah dan ukuran DNA ribosom yang diperoleh ditentukan dengan melakukan elektroforesis 5,0 μ l larutan pada gel agarose 0,7 % yang mengandung Ethidium Bromide dan 0,1 μ g λ DNA yang dipotong dengan enzim HindIII sebagai pembanding. Kira-kira 400 ng DNA ribosom dipotong-potong dengan enzim endonuklease (restriction endonucleases) *CfoI*, *DdeI*, *HaeI* dan *MspI* (5 unit dalam reaksi 25 μ L) seperti yang diinstruksikan oleh pabriknya (GibcoBRL Life Technology, Breda, The Netherlands). Fragmen yang dihasilkan dipisahkan dengan melakukan elektroforesis pada gel agarose 3 % yang mengandung Ethidium Bromide pada arus listrik 100 V selama 2 jam. "Fingerprint" dari ARDRA DNA ribosom (16S rDNA dan 16S-23S rDNA) disimpan dalam bentuk file TIFF. Gambar kemudian dianalisa dan dendogram dibuat berdasarkan UPGMA (Unweighghted Pair Group Method Using Arithmetic Averages) dari Molecular Analysis Software (14).

Pemetaan (sequencing) gen 16S rDNA

16S rDNA hasil penggandaan (amplification) dengan PCR tersebut diatas dimurnikan dengan "Qiaquick PCR purification Kit" dari Qiagen, Hilden, Germany. Kemudian

dilakukan elektroforesa pada gel agarose 1,2 % yang mengandung Ethidium Bromide. λ DNA yang dipotong dengan enzim HindIII dari GibcoBRL Life Technology digunakan sebagai pembanding untuk penghitungan. Setelah murni 16S rDNA tersebut dikloning dalam bakteri *Escherichia coli* JM109 dengan menggunakan "pGEMR-T vector" dari Promega, Leiden, The Netherlands. Plasmid DNA yang diperoleh kemudian dipeta (sequencing). Tingkat kesamaan (homology) data sequence dari 16S rDNA yang diperoleh dianalisis dengan program BLASTN dari GenBank Network (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/>).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele telah diisolasi dari contoh tanah yang berasal dari pulau Jawa dan Sumatra. Berdasarkan analisis genetik, dengan memakai metode ARDRA dan pemetaan dari 16S rDNAny, beberapa bakteri tersebut dapat diklasifikasikan sebagai *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* dan *Sinorhizobium fredii* (9). Dalam penelitian selanjutnya, berdasarkan uji kemampuan untuk membentuk bintil akar pada beberapa varietas tanaman kedele, bakteri *S.fredii* yang telah dilaporkan oleh Waluyo *et al.* (9) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan beberapa bakteri *S.fredii* yang telah diketemukan oleh peneliti sebelumnya. Waluyo (10) menyimpulkan bahwa bakteri tersebut adalah asli dari Indonesia. Dalam penelitian tersebut telah diisolasi genomik DNA dari bakteri *S.fredii* J-TGS50 dan beberapa strain pembanding yaitu USDA 192, USDA 201, USDA 205, USDA 206 dan USDA 217 (Gambar 1). Genomik DNA yang diperoleh dipakai sebagai bahan ("template") untuk memperbanyak gen 16S rDNA (Gambar 2) dan gen 16S-23S rDNA dengan mesin PCR. Gen-gen hasil penggandaan tersebut kemudian dipotong dengan beberapa enzim (restriction enzymes) dan menghasilkan pola-pola yang disebut sebagai fingerprints seperti ditampilkan pada Gambar 4. Pada fingerprint tersebut tampak bahwa bakteri *S.fredii* J-TGS50 sangat berbeda dengan jenis *S.fredii* lainnya. Untuk melihat tingkat kekerabatan dari bakteri tersebut, fingerprint hasil dari pemotongan beberapa enzim, dianalisis dengan membuat dendogram dengan menggunakan program komputer dari Molecular Analysis Software (14). Dendogram yang dihasilkan dengan gen 16S rDNA (Gambar 5) dan gen 16S-23S rDNA (Gambar 6) menunjukkan bahwa bakteri *S.fredii* J-TGS50 sangat berbeda dengan ke 5 strain pembanding yang digunakan. Perbedaan dari kedua

dendogram ini terlihat pada daya diskriminasinya (% homology). Hasil ARDRA dari 16S rDNA menunjukkan lebih diskriminatif daripada ARDRA dari 16S-23S rDNA yaitu dapat membedakan bakteri-bakteri dengan tingkat kekerabatan sekitar 87 %. Sedangkan pada ARDRA 16S-23S rDNA hanya bisa membedakan pada tingkat kekerabatan 63 %. Hal ini disebabkan gen 16S rDNA adalah sangat stabil (highly conserved), sedangkan gen 16S-23S rDNA adalah sangat bervariasi karena terdiri dari gen non-coding dan gen tRNA. Untuk memastikan apakah bakteri *S.fredii* J-TGS50 berbeda dengan *S.fredii* yang diketemukan sebelumnya, gen 16S rDNA yang telah digandakan dimurnikan dengan kloning (Gambar 3). Setelah murni kemudian digandakan lagi dengan mesin PCR, dan hasilnya dipeta (di sequencing). Dari penggandaan dengan mesin PCR diperoleh 1600 nukleotida yang terdapat pada gen 16S rDNA dan dari jumlah tersebut sebanyak 1443 nukleotida dapat dibaca. Urutan basa nukleotida tersebut kemudian dianalisis dengan program komputer dari internet dengan alamat GenBank Network: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/>. Dengan program ini urutan basa nukleotida yang telah diperoleh tersebut dibandingkan dengan urutan basa nukleotida dari bakteri *S.fredii* lain yang telah ditemukan oleh peneliti sebelumnya dan disimpan di GenBank Network. Hasil dari perbandingan tersebut (Tabel 2) dapat mendukung dan menguatkan hasil penelitian sebelumnya yaitu bakteri *S.fredii* J-TGS50 adalah berbeda dengan *S.fredii* yang ditemukan sebelumnya, dan merupakan species baru dari genus *Sinorhizobium*.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri *Sinorhizobium fredii* J-TGS50 adalah strain baru dari species bakteri *Sinorhizobium* dan asli dari Indonesia. Penggunaan metode biologi molekuler membuka peluang untuk mendapatkan species baru bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedele yang ada di Indonesia. Ada kemungkinan besar bermacam-macam rhizobia berada di dalam tanah Indonesia, dan pembudidayaan lebih lanjut secara optimal masih terbuka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang mendalam disampaikan kepada Prof. Willem M. de Vos dan Dr. Ir. Lie Tek An, Laboratory of Microbiology, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, yang telah memberi kesempatan, tempat dan dana dalam penelitian ini. Juga

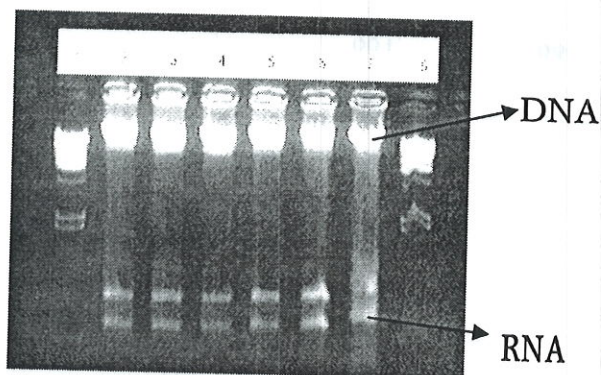
kepada Prof. Dr. Gouglas K. Jones, Bestville *Rhizobium* Culture Collection, Bestville, USA yang telah memberikan biakan murni *Sinorhizobium fredii*, USDA 192, USDA 201, USDA 205, USDA 206 dan USDA 217.

DAFTAR PUSTAKA

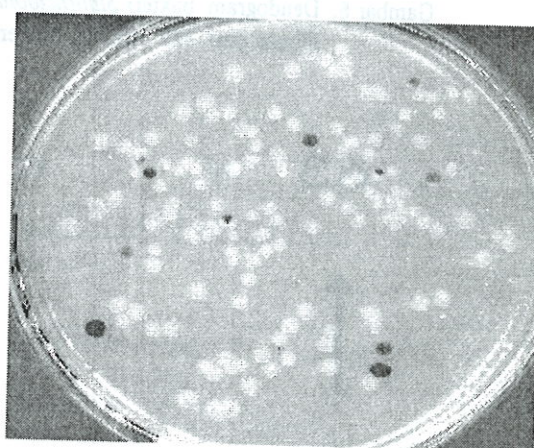
1. FRED E B, I L BALDWIN AND E MCCOY Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison, WI. University of Wisconsin, United States of America. (1932). Hal 230-236.
2. JORDAN D C Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen.nov., a genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 136-139. (1982).
3. KEYSER H H, B BEN BOHLOOL, T S HU AND D F WEBER Fast-growing rhizobia isolated from root nodules of soybean. Science 215: 1631-1632. (1982)
4. SCHOLLA M H AND G H ELKAN *Rhizobium fredii* sp.nov., a fast-growing species that effectively nodulates soybeans. Int. J. Syst. Bacteriol. 34: 484-486. (1984).
5. KUYKENDALL L D, B SAXENA, T E DEVINE AND S E UDELL Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum* Jordan 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii* sp. Nov. Appl. Environ. Microbiol. 38: 501-505. (1992)
6. XU L M, C GE, J LI AND H FAN *Bradyrhizobium liaoningensis* sp nov. isolated from the root nodules of soybean. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 706-711. (1995).
7. CHEN W X, E T WANG, S Y WANG, Y B LI, J L GAO, X Q CHEN AND Y LI Characteristics of *Rhizobium tianshanense* sp. nov., a moderately and slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, People's Republic of China. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 153-159. (1995).
8. TOXOPEUS H J Over de physiologische specialisatie bij knolletjes-bacterien van Kedelaie op Java. Verslag van de zestiende vergadering van de vereeniging van proefstatios-personeel. pp.53-64. (1936).
9. WALUYO S H, T A LIE, L T'MANNETJE AND W M DE VOS Phylogenetic analysis of soybean brady- and sinorhizobia isolated from Java and Sumatra, Indonesia. In Biological Nitrogen Fixation of Soybean in Acid Soils of Sumatra, Indonesia, Chapter 5, PhD thesis. Pp. 95-109. Wageningen University, The Netherlands. (2000)
10. WALUYO S H Sifat simbiosis *Sinorhizobium fredii* J-TGS50 sebagai bakteri pembentuk bintil akar tanaman kedede asli Indonesia. Proseding APISORA 2004. (2004).
11. MASSOL-DEYA A A, D A ODELSON, R F HICKEY AND J M TIEDJE Bacterial community fingerprinting of amplified 16S and 16-23S ribosomal DNA gene sequences and restriction endonuclease analysis (ARDRA). Section 3: Identification and classification of microbes using DNA and RNA sequences. In Molecular microbial ecology manual (A D L Akkermans, J D van Elsas and F J De Bruijn, Eds.).pp.3.3.2/1-3.3.2/8. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. (1995)
12. SOMASEGARAN P AND H J HOBEN Handbook for Rhizobia. Methods in legume-*Rhizobium* technology. Springer-Verlag. New York, Inc., New York, United States of America. (1995).
13. LAGUERRE G, M ALLARD, F REVOY AND N AMARGER Rapid identification of rhizobia by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes. Appl. Environ. Microbiol. 60: 56-63. (1994).
14. BIO-RAD Molecular software analysis. Bio-Rad, California, United States of America. (1995)
15. LANE D J 16S/23S rRNA sequencing. In Nucleic acid techniques in bacterial systematics (E Stackebrandt and M Goodfellow, Eds.). pp. 115-175. John Willey & Sons, Chichester, United Kingdom. (1991).
16. HYMOWITZ T AND C A NEWELL Taxonomy, specification, domestication, dissemination, germplasm resources and variation in the genus *Glycine*. In Advance in legume science (R J Summerfield and A H Bunting, Eds.). pp. 251-264. Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom. (1981).

Tabel 1. Urutan basa dari primer-primer yang digunakan didalam penelitian ini (13).

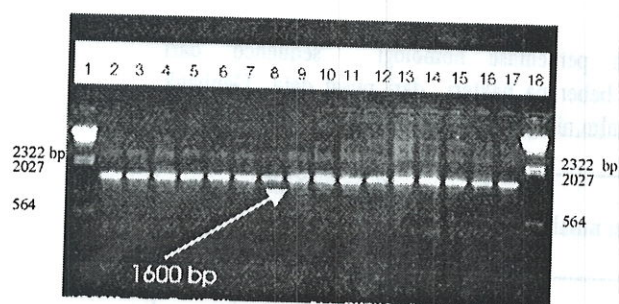
Primer	Sequence	PCR Reaction	Location	Reference
8	5'-CAC GGA TCC AGA GTT TGAT (C/T) (A/C) TAG TCC AG-3'	} 16S rDNA	8-27 (16S rDNA)	} (14)
1510H	5'-GTT AA GTT ACTG (C/T) TAC GTT GTT ACG ACTT-3'		1100-1115 (16S rDNA)	
pHr	5'-TGCGGCTGGATCACCTCCTT-3'	} 16S-23S rDNA	1518-1541 (16S rDNA)	} (10)
p23SROI	5'-GGCTGCTTCTAAGCCAAC-3'		1069-1052 (23S rDNA)	



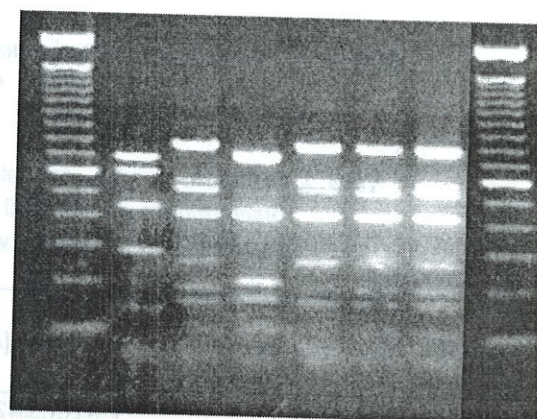
Gambar 1. Genomik DNA dari bakteri *Sinorhizobium fredii* (lajur 2-7). Lajur 1 and 8 adalah λ DNA marker yang dipotong dengan *Hind*III.



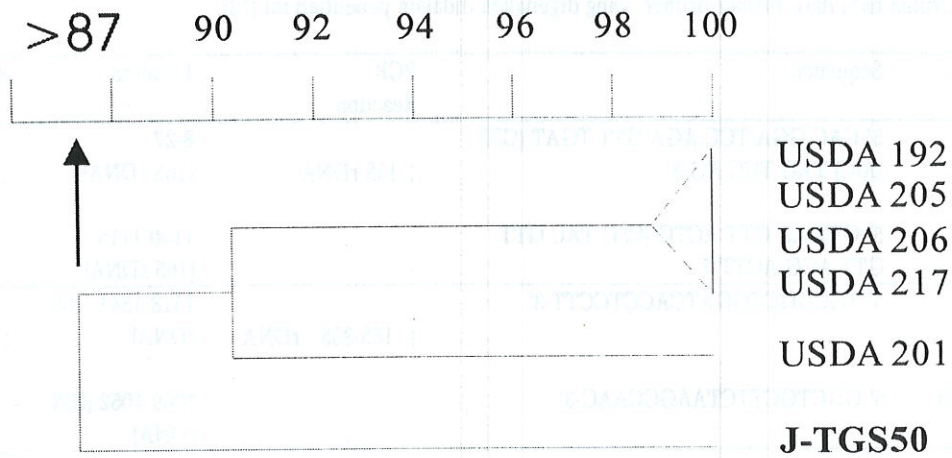
Gambar 3. Koloni warna putih adalah "Ampicillin-resistant transformant" hasil kloning dalam bakteri *E. coli* JM109 menggunakan "pGEM^R-T Vector system".



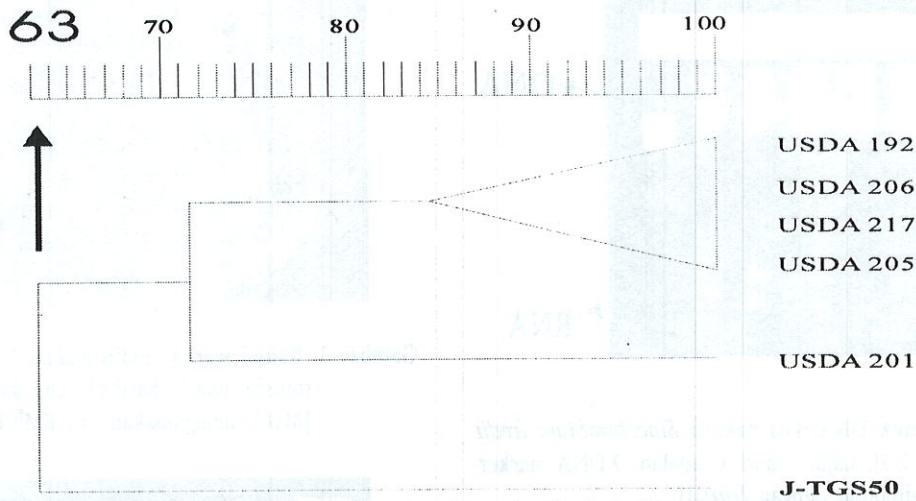
Gambar 2. Produk 16S rDNA-PCR dari bakteri *Sinorhizobium fredii* (lajur 2-17). Lajur 1 and 18 adalah λ DNA marker yang dipotong dengan *Hind*III.



Gambar 4. Pola-pola potongan (Restriction patterns) dari 16S-23S rDNA produksi PCR dipotong dengan enzim *Cfo* I. Lajur 1 dan 8 adalah "DNA ladder" 100 bp (Life Technology). Lajur 2 diperoleh dari bakteri *Sinorhizobium fredii* J-TGS50. 3-7 masing-masing diperoleh dari bakteri *Sinorhizobium fredii* USDA 192, 201, 205, 206 dan 217.



Gambar 5. Dendrogram bakteri *Sinorhizobium fredii*, 5 dari USDA Amerika dan 1 dari Indonesia, yang dibuat dari 16S ARDRA "fingerprint".



Gambar 6. Dendrogram bakteri *Sinorhizobium fredii*, 5 dari USDA Amerika dan 1 dari Indonesia, yang dibuat dari 16S-23S ARDRA "fingerprint".

Tabel 2. Perbedaan jumlah nukleotida dan persentase homologi "sequence" dari *Sinorhizobium fredii* TGS50 dengan beberapa bakteri dari pusat data Genbank (GenBank Network: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/>).

Spesies	Nomor (Accession number)	<i>S. fredii</i> TGS50 1443*	
		N**	% H***
<i>S. fredii</i>	ATCC35423	23	97
<i>S. fredii</i>	IAM13625	21	97
<i>S. fredii</i>	LMG6217	21	97
<i>S. xinjiangensis</i>	IAM14142	21	97
<i>S. saheli</i>	LMG7837	30	97

** Jumlah nukleotida yang berbeda.

*** Persentase homologi dari susunan nukleotida.

DISKUSI

NADA MARNADA :

Bagaimana Prospek penelitian yang sedang anda lakukan ini dan kaitannya dengan penggunaan isotop dan radiasi ?

SETIYO HADI WALUYO

Prospek penelitian ini sangat bagus karena bisa mengurangi penggunaan pupuk nitrogen buatan yang sangat mahal. Teknologi isotop dan radiasi dipakai untuk mengklarifikasi lebih lanjut di dalam penelitian ini yaitu setelah bakteri yang digunakan tersebut dapat meningkatkan produksi tanaman kedelai perbaikan cara pemberian bakteri tersebut untuk mengoptimalkan daya fiksasi nitrogennya (Metode N^{15}) dapat dipelajari lebih teliti dengan teknik isotop yaitu metode N^{15} .

FAUZIYAH HARAHAP :

Berdasarkan 16 rDNA ARDRA S fredci JTGS50 tingkat kekerabata dengan 5 strain terdahulu = 87%

Berdasar 16S-23S DNA ARDRA tingkat kekerabatan = 63% artinya mereka mempunyai kesamaan 87% & 63% apakah perbedaan sebesar 13% & 37% sudah bisa memastikan bahwa bakteri ini berbeda speciesnya ? menurut saya perlu kategori lain untuk dapat menggolongkan individu itu berbeda species.

Berbeda ya tetapi untuk memastikan itu berbeda species masih sangat jauh.

SETIYO HADI WALUYO

Analisa dengan ARDRA memang tidak ditujukan untuk menentukan apakah suatu bakteri adalah lain jenis dengan bakteri yang sudah ada , untuk itu maka dilakukan pemetaan gen 16S rDNANYa dan ternyata persamaannya adalah 97% suatu tingkat kesamaan yang sangat tipis dan ditambah dengan pengujian sebelumnya (Symbiosis) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

MERI SUHARTINI

1. Bagaimana proses terjadinya degradasi dari agar-agar ?.
2. Mengapa tidak diukur terjadinya perubahan BM agar-agar dengan GPC ?

SETIYO HADI WALUYO

1. Secara umum ada dua kemungkinan proses yang terjadi pada reaksi degradasi senyawa makromolekuler yaitu degradasi yang terjadi pemutusan rantai molekul secara acak (random) yang disebabkan oleh intermolecular radikal reaksi dan depropagasi makroradikal yang keduanya berlangsung secara kompetitif. Pada agar-agar yang merupakan derval selulosa, reaksi degradasinya umumnya mengikuti pola reaksi degradasi selulosa yaitu pemutusan ikatan 1,4 glikosida.
2. Betul, untuk memperkuat data penelitian ini selayaknya perlu dilakukan pengujian distribusi berat molekul rata-rata dari agar-agar baik yang diiradiasi maupun kontrol menggunakan GPC atau HPLC yang dilengkapi kolom SEC. Namun demikian alat yang digunakan untuk menguji distribusi berat molekul rata-rata akibat iradiasi kita tidak punya dan bagian ini akan dilakukan penelitian khusus.

ZAINAL ABIDIN

Benefit apa yang dapat diperoleh industri dari penelitian ini ?.

SETIYO HADI WALUYO

Mengingat Indonesia yang merupakan salah satu produsen rumput laut yang cukup besar di dunia, berdasarkan karakter degradasi dari agar-agar. Salah satu kemungkinan benefit yang dapat disumbangkan ke industri adalah bahwa iradiasi pada agar-agar disamping iradiasi dapat mengurangi kontaminasi jamur, yaitu bahwa iradiasi dapat membentuk molekul polimer dengan variasi berat molekul rata-rata yang beragam. Sudah tentu hal ini sangat bermanfaat dalam aplikasinya yaitu tersedianya agar-agar dengan beragam berat molekul.