

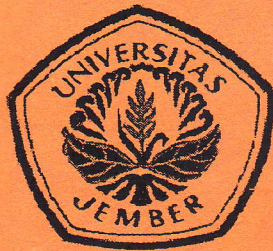
1036

1036

MIPA (Biosains) /
BIOKIMIA

LAPORAN HASIL PENELITIAN

HIBAH BERSAING



IDENTIFIKASI BAKTERI XILANOLITIK ASAL MIKROB
SISTEM ABDOMINAL RAYAP DAN OVEREKSPRESI
endo-β-1,4-D-XILANASE SEBAGAI PRODUSEN PREBIOTIK

Anak Agung Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
Dr. Dra. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M. Si

DIDANAI DIPA UNIVERSITAS JEMBER NOMOR: 0175.0/023-042/XV/2009
TANGGAL 31 DESEMBER 2008

UNIVERSITAS JEMBER
Desember 2009

1036
Desember 2009

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri Xilanolitik asal Mikrob Sistem Abdominal Rayap dan Overekspresi Gen Penyandi *endo- β -1,4-D-Xilanase* sebagai Produsen Prebiotik
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Anak Agung Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIP : 197102251997022001
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - e. Jabatan Struktural : -
 - f. Bidang Keahlian : Biokimia, Mikrobiologi, Enzimologi, dan Biologi Molekuler
 - g. Fakultas/Jurusan : Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam/ Kimia
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Jember
 - i. Tim Peneliti

No	Nama & Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Fakultas/ Jurusan	Perguruan Tinggi)
1	A. A. Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si	Biokimia	FMIPA/Kimia	Universitas Jember
2	Dr. Dra. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M. Si	Biokimia	FMIPA/Kimia	Universitas Airlangga

3. Pendanaan Jangka Waktu Penelitian :
- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 2 (dua) Tahun
 - b. Biaya Total Yang Diusulkan : Rp. 96.744.700,-
 - c. Biaya Yang Disetujui Tahun I (Pertama) : Rp. 46.750.000,-

Jember, 05 Desember 2009



Prof. Drs. Kasno, DEA, Ph.D
NIP. 196101081986021001

Ketua Peneliti

A. A. Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
NIP. 197102251997022001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Jember

Dr. Ir. Cahyadi Bowo
NIP. 19610316198902101

RINGKASAN

Diperoleh dua jenis isolat bakteri xilanolitik (berkarakteristik putih keruh atau PK dan coklat bening atau CB) yang belum teridentifikasi secara taksonomik berdasarkan hasil eksplorasi yang telah dilakukan. Identifikasi pendahuluan secara mikrobiologis menunjukkan bahwa kedua koloni mampu menghidrolisis polimer *oat-spelt xylan* yang ditandai dengan terbentuknya zona terang disekitar koloni (zona halo). Terkait dengan aktivitas xilanolitik yang ditunjukkan tersebut, maka identifikasi yang akan dilakukan terhadap kedua isolat bakteri tersebut telah berlanjut pada aspek fenotipik (analisis 16S rRNA). Bakteri xilanolitik yang telah diisolasi dari sistem abdominal rayap berikutnya dikultivasi secara spesifik dalam medium yang mengandung xilan dan dilakukan visualisasi terhadap aktivitasnya menggunakan substrat xilan. Secara kuantitatif, aktivitas enzim *endo- β -1,4-D-xilanase* menunjukkan aktivitas tertinggi dibanding *ekso- β -1,4-D-xilosidase*, *α -L-arabinofuranosidase*, *α -D-glukuronidase*, dan asetil xilan esterase, dimana masing-masing sebesar 4,78; 0,00; 1,94; 2,64; dan 0,00 unit. Pada tahap berikutnya yang berupa produksi pada medium yang mengandung *oat-spelt xylan* dilakukan untuk memperoleh ekstrak sel-sel bakteri. Langkah identifikasi yang berlanjut secara fenotipik melalui analisis 16S rRNA meliputi isolasi dan penentuan konsentrasi DNA kromosom, dimana DNA kromosom telah terisolasi dengan konsentrasi $0,125 \mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ dengan tingkat kemurnian 0,7. Berdasarkan hasil elektroforesis diketahui bahwa terdapat pita-pita DNA koloni 7, 23, dan 2a dengan pasangan basa lebih dari 10×10^3 bp. Pada tahap reaksi PCR, proses amplifikasinya dilakukan menggunakan beberapa pasang primer yang berbeda (Batch F9 S2a, UniB 9 S2a, P-P369-15, P-P389-15, Com F9 23, dan Com R9 23). Berdasarkan hasil analisis PCR dengan konsensus primer prokariotik tersebut, diperoleh pita DNA dengan ukuran basa ± 300 bp. Konsentrasi suspensi DNA dari produk PCR hasil pemurnian menunjukkan konsentrasi sebesar $0,0625 \mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ dengan tingkat kemurnian 1,25. Sekuensing dan desain primer menghasilkan urutan nukleotida dan konstruksi gen 16 rRNA isolat 2a maupun 23. Langkah Blast yang dilakukan berdasarkan data sekuensing menunjukkan bahwa isolat 2a memiliki kemiripan terdekat dengan *Enterobacter* sp. dan *Enterobacteriaceae bacterium* (98-99%, Primer Batch F), *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter hormaechei* (98-99%, Primer P36), sedangkan isolat 23 menunjukkan kemiripan terdekat dengan *Rummeliibacillus stabekisii*, *Bacillaceae bacterium*, *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus fusiformis* (94-95%, Primer Com-I GC F), serta *Bacillus* sp., *Pontibacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Malobacillus* sp., dan *Bacillus pseudofirmus* (94-95%, Primer Com-II R).

SUMMARY

Have been obtained two isolates of xylanolytic bacteria (designed as cloudy white or PK and clear brown or CB) and have not been identified taxonomically based on exploration result which have been performed. Preliminary identification microbiologically showed that the isolates can hydrolyzes of *oat-spelt xylan* polymer that indicated by formation of clear zone around colonies (halo zone). Regard of these xylanolytic activities, identification that have been performed to bacterial isolates then continued to phenotype aspect (16S rRNA analysis). Xylanolytic bacterial that has been isolated from abdominal system of termites then cultivated specifically in xylan-contain medium and visualized against their activity employing xylan as substrate. Quantitatively, enzyme activity of *endo-β-1,4-D-xylanase* indicates highest activity than *exo-β-1,4-D-xylosidase*, *α-L-arabinofuranosidase*, *α-D-glucuronidase*, and acetyl xylan esterase, which 4,78; 0,00; 1,94; 2,64; and 0,00 unit, respectively. In the next steps, productions in *oat-spelt xylan*-contain medium has been achieved to obtain of bacterial-cell extracts. Identification steps that continued phenotypically *via* 16S rRNA analysis covering of isolation and determination of chromosomal-DNA concentration, which showed concentration of $0.125 \mu\text{g}.\mu\text{l}^{-1}$ with purification degree of 0.7. Based on electrophoretogram revealed that DNA bands for colonies of 7, 23, and 2a possessed pairing base over 10×10^3 bp. In step of PCR reaction, amplification process was accomplished employing of some different primer (Batch F9 S2a, UniB 9 S2a, P-P369-15, P-P389-15, Com F9 23, and Com R9 23). Based on PCR analysis result with these consensus of prokaryotic primer, was obtained DNA bands with pairing base of ± 300 bp. DNA suspension of purification results (PCR product) showed that concentration of $0.0625 \mu\text{g}.\mu\text{l}^{-1}$ with purification degree of 1.25. Sequencing and primer design resulted of nucleotide sequences and 16S rRNA gene construction of isolates 2a and 23. Blast steps that have been undertaken based on sequencing data, indicates that isolate of 2a have similarity with *Enterobacter* sp. and *Enterobacteriaceae bacterium* (98-99%, Primer Batch F), *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter hormaechei* (98-99%, Primer P36), whereas isolate 23 showed closed to *Rummeliibacillus stabekisii*, *Bacillaceae bacterium*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus fusiformis* (94-95%, Primer Com-I GC F), and also *Bacillus* sp., *Pontibacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Malobacillus* sp., and *Bacillus pseudofirmus* (94-95%, Primer Com-II R).