



PROSIDING

Seminar Nasional Biologi dan Pembelajaran Biologi

Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya dalam menunjang Pembelajaran Biologi

26 Oktober 2017



**UNIVERSITAS PATTIMURA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI**

ISBN 978-602-18237-1-2

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOLOGI DAN PEMBELAJARAN BIOLOGI 2017

“Biodiversitas Kepulauan Maluku dan Pemanfaatannya
dalam menunjang Pembelajaran Biologi”

Ambon, 26 Oktober 2017



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS PATTIMURA
2017**

Hubungan Filogenetik Beberapa Spesies Anggota Genus *Rhodobacter* Berdasarkan Sekuens Gen *rho* dan *gmk*

Edwin Thomas Apituley
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura

Abstrak

Genus *Rhodobacter* merupakan anggota filum Proteobacteria, kelas Alpha proteobacteria, ordo Rhodobacterales yang memiliki anggota spesies yang mampu untuk hidup pada berbagai jenis habitat yang berbeda; padadaratan, air tawar hingga pada air payau dan air asin. Hubungan filogenetik antar spesies dalam genus *Rhodobacter* ditentukan dengan menggunakan informasi sekuen 16S rRNA maupun homologi DNA genom. Beberapa molekul yang penting bagi proses kehidupan didalam sel bakteri seperti gen *rho* dan *gmk* dapat digunakan sebagai alternatif dan pelengkap analisis filogenetik yang dilakukan dengan menggunakan sekuen gen 16S rRNA. Konstruksi pohon filogenetik dilakukan berdasarkan sekuen gen 16S rRNA, *rho* dan *gmk* dengan metode *Neighbor Joining* model Jukes-Cantor untuk mengukur jarak genetik, analisis bootstrap terhadap percabangan pohon filogenetik dilakukam dengan menggunakan 1000 pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan topologi dari masing-masing pohon filogenetik yang dikonstruksi dari sekuen gen 16S rRNA, *rho* dan *gmk*, dimana konstruksi berdasarkan gen 16S rRNA menunjukkan pemisahan yang lebih baik anggota genus *Rhodobacter* berdasarkan habitatnya maupun anggota genus *Rhodobacter* terhadap anggota genus non-*Rhodobacter*.

Kata-kata kunci : Genus *Rhodobacter*, gen 16S rRNA, gen *rho*, gen *gmk*, analisis filogenetik

PENDAHULUAN

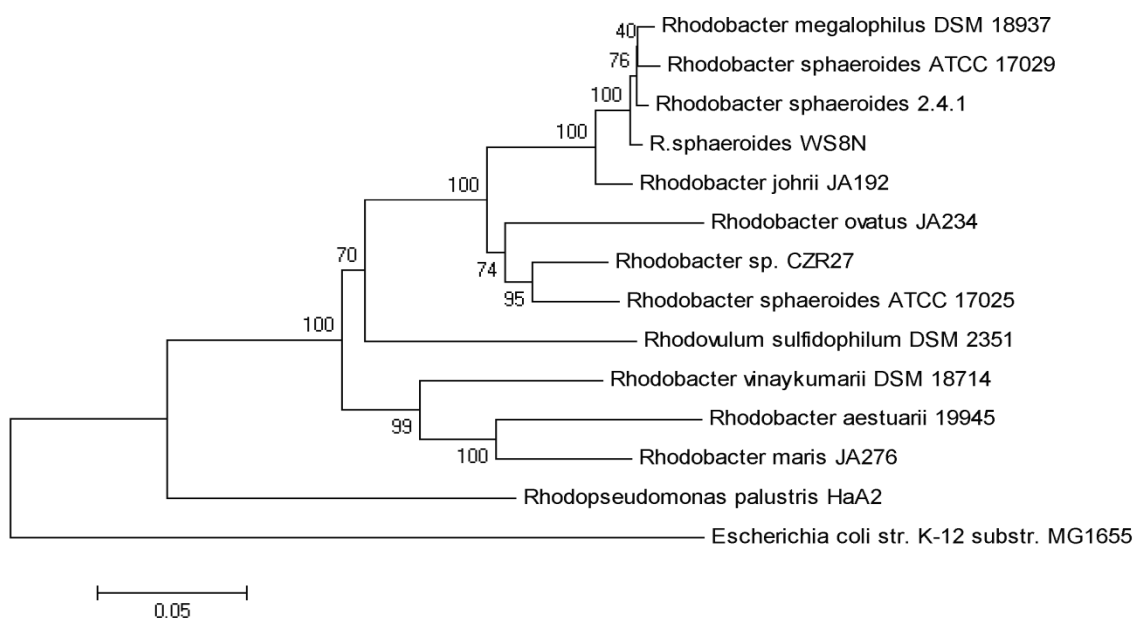
Genus *Rhodobacter* adalah anggota filum Proteobacteria, kelas Alphaproteobacteria, ordo Rhodobacterales yang memiliki ciri antarlain; gram negatif, morfologi ovoid atapun tongkat, bersifat motil maupun non-motil, membelah diri dengan pembelahan biner dan memiliki membran fotosintesis vesikuler (Imhoffet. al., 1984). Spesies dari genus *Rhodobacter* memiliki habitat yang bervariasi dari lingkungan darat, air tawar hingga lingkungan air laut (Hiraishi dan Ikeda, 1994; Ramana et.al., 2009). Hubungan filogenetik antar spesies dalam genus *Rhodobacter* ditentukan dengan menggunakan informasi sekuen 16S rRNA maupun homologi DNA genom (Ramana et.al., 2009; Girijaet.al., 2010). Pengembangan metode amplifikasi 16S rRNA dengan metode amplifikasi enzimatik memungkinkan untuk mempelajari filogenetik bakteri bahkan tanpa perlu untuk dikulturkan (Weisburg et.al., 1991). Sejumlah gen tertentu seperti gen *rho* yang menyandikan protein faktor terminasi transkripsi *rho* maupun gen *gmk* yang menyandikan protein guanilat kinase merupakan gen yang berperan penting dan dibutuhkan untuk kelangsungan kehidupan hampir semua organisme, digunakan sebagai alternatif

maupun pelengkap analisis filogenetik dengan menggunakan gen 16S rRNA. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari hubungan filogenetik beberapa spesies anggota genus *Rhodobacter* berdasarkan sekuen gen 16S rRNA, *rho* dan *gmk*.

BAHAN DAN METODE

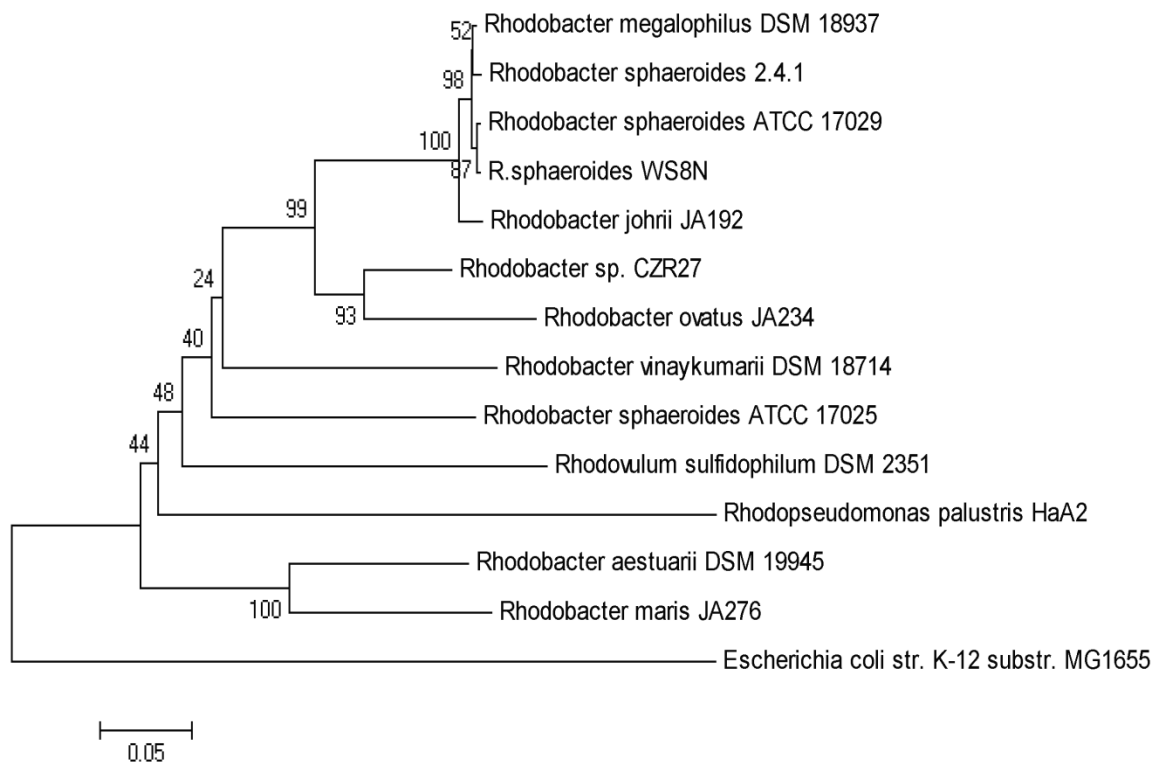
Sekuen nukleotida untuk gen 16S rRNA, *rho* dan *gmk* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari bank data *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) dan berasal dari bakteri *Rhodobacter sphaeroides* ATCC17025, *Rhodobacter sphaeroides* ATCC17029, *Rhodobacter sphaeroides* WS8N, *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1, *Rhodobacter megalophilus* DSM18937, *Rhodobacter johrii* JA192T, *Rhodobacter sp.*CZR27, *Rhodobacter ovatus* JA234, *Rhodobacter vinaykumarii* DSM18714, *Rhodobacter aestuarii* DSM 19945, *Rhodobacter maris* JA276, *Rhodovulum sulfidophilum* DSM 2351, *Rhodopseudomonas palustris* HaA2 dan *Escherichia coli* str.K-12 substr. MG1655. Analisis filogenetik dibuat menggunakan MEGA 5 (Tamura *et.al.*, 2011) dan metode *Neighbor Joining* (Saito and Nei, 1987) dan model Jukes-Cantor (Jukes and Cantor, 1969). Analisis bootstrap terhadap percabangan pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan 1000 pengulangan. Pensejajaran sekuen dilakukan dengan menggunakan Clustal-W (Thompson *et.al.*, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN



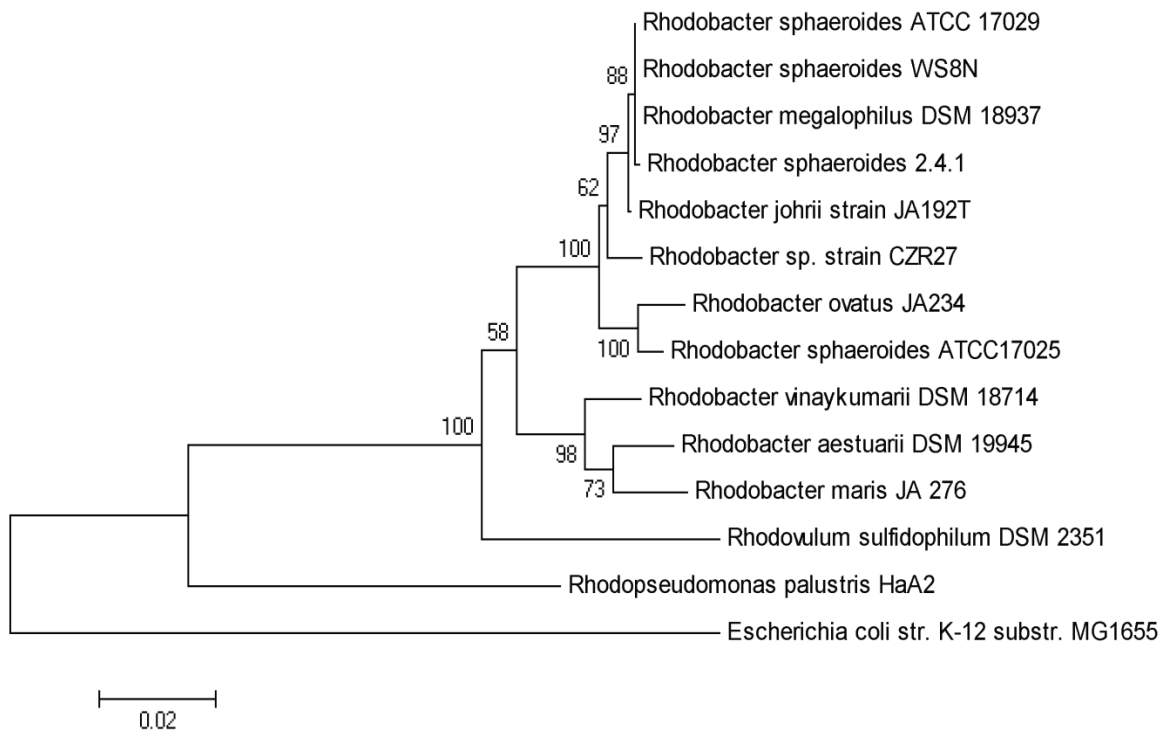
Gambar 1. Pohon filogenetik berdasarkan analisis sekuens gen *rho*. Skala mengindikasikan jarak genetik.

Hasil konstruksi pohon filogenetik berdasarkan sekuen gen *rho* menunjukkan terpisahnya anggota genus *Rhodobacter* menjadi dua kelompok, yaitu *R. megalophilus* DSM 18937, *R. sphaeroides* ATCC 17029, *R. sphaeroides* 2.4.1, *R. sphaeroides* WS8N, *R. johrii* JA 192, *R. ovatus* JA234, *Rhodobacter* sp. CZR27, *R. sphaeroides* ATCC 17025 yang merupakan kelompok spesies *Rhodobacter* yang hidup pada habitat daratan dan air tawar, dan kelompok *Rhodobacter* yang hidup pada air payau dan asin yaitu *Rhodobacter vinaykumarii* DSM 18714, *Rhodobacter aestuarii* DSM 19945 dan *Rhodobacter maris* JA 276 (Gambar 1).



Gambar 2. Pohon filogenetik berdasarkan analisis sekuen gen *gmk*. Skala mengindikasikan jarakgenetik.

Pohon filogenetik yang dikonstruksi berdasarkan sekuen gen *gmk* menunjukkan pemisahan anggota genus *Rhodobacter* menjadi dua kelompok, yaitu *R. megalophilus* DSM 18937, *R. sphaeroides* ATCC 17029, *R. sphaeroides* 2.4.1, *R. sphaeroides* WS8N, *R. johrii* JA 192, *R. ovatus* JA234, *Rhodobacter* sp. CZR27, *R. sphaeroides* ATCC 17025 yang merupakan kelompok spesies *Rhodobacter* yang hidup pada habitat daratan dan air tawar, dan kelompok *Rhodobacter* yang hidup pada air payau dan asin yaitu *Rhodobacter aestuarii* DSM 19945 dan *Rhodobacter maris* JA 276 tanpa *Rhodobacter vinaykumarii* DSM 18714 (Gambar 2). Anggota genus *Rhodovulum* dan *Rhodopseudomonas* juga mengelompok ke dalam kelompok genus *Rhodobacter*.



Gambar 3. Pohon filogenetik berdasarkan analisis sekuen gen 16S rRNA. Skala mengindikasikan jarak genetik.

Gambar 3 menunjukkan struktur pohon filogenetik berdasarkan sekuen gen 16S rRNA dimana anggota genus *Rhodobacter* dipisahkan dalam dua kelompok berdasarkan habitatnya, kedua kelompok tersebut juga memisah dari anggota genus non-*Rhodobacter* yang lain.

Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa semua spesies anggota genus *Rhodobacter* terpisah kedalam kelompok berdasarkan habitatnya yaitu kelompok yang hidup pada daratan dan air tawar dan kelompok yang hidup pada air payau dan air asin, meskipun demikian terdapat perbedaan topologi antara pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuen gen *rho* dengan pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuen gen *gmk*.

Protein rho berperan penting dalam mekanisme utama penghentian transkripsi pada bakteri (Richardson, 2003) dan guanilat kinase merupakan enzim kunci dalam sintesis nukleorida guanin, dengan mengkatalisis konversi guanosine monophosphate (GMP) menjadi guanosine monophosphate (GMP) (Nomura et al., 2014). Pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuen gen *rho* memiliki pemisahan yang lebih jelas antar kelompok yang hidup pada habitat yang berbeda dibandingkan pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuen gen *gmk*. Pada pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuen gen *gmk*, *Rhodobacter vinaykumarii* DSM 18714 tidak termasuk ke dalam kelompok yang hidup pada habitat air payau dan asin.

Persentase nilai bootstrap pada pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen *gmk* relatif lebih kecil dibandingkan pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen *rho* dan 16S rRNA. Secara umum pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuens gen 16S rRNA menunjukkan pemisahan yang lebih jelas kelompok anggota genus *Rhodobacter* yang hidup pada habitat yang berbeda, demikian juga anggota genus *Rhodobacter* terhadap anggota genus non *Rhodobacter* yang lain dari kelas Alphaproteobacteria (*Rhodovulum sulfidophilum* DSM 2351 dan *Rhodopseudomonas palustris* HaA2) maupun terhadap *Escherichia coli* str.K-12 substr. MG1655, meskipun demikian pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen *rho* lebih baik dalam pemisahan antar spesies anggota genus *Rhodobacter* yang hidup pada daratan dan air tawar dibandingkan pada pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuens 16S rRNA. Faktor *rho* diperkirakan bersifat esensial untuk bakteri gram negatif, seperti *Rhodobacter sphaeroides* dan *Escherichia coli* tetapi tidak untuk bakteri gram positif seperti *Bacillus subtilis* (Gomelsky dan Kaplan, 1996) meskipun demikian jarak genetik pada pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen *rho* lebih besar dibandingkan pada pohon filogenetik berdasarkan sekuens 16S rRNA.

KESIMPULAN

Konstruksi pohon filogenetik berdasarkan sekuens gen 16S rRNA, *rho* dan *gmk* menunjukkan adanya perbedaan topologi pohon filogenetik yang dihasilkan. Dibandingkan dengan pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuens gen *rho* dan *gmk*, pohon filogenetik yang dibentuk berdasarkan sekuens gen 16S rRNA menunjukkan pemisahan yang lebih jelas antar kelompok anggota genus *Rhodobacter* yang hidup pada habitat yang berbeda dan dengan spesies yang berasal dari genus yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Girija, K. R., Sasikala, C., Ramana, C. V. Sproer, C, Takaichi, S., Thiel V & J. F. Imhoff. 2010. *Rhodobacter johrii* sp. nov., an endospore producing cryptic species isolated from semi arid tropical soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol 60: 2099-2107.
- Gomelsky, M & S. Kaplan. 1996. The *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 rho Gene: Expression and Genetic Analysis of Structure and Function. J. Bacteriology 178(7): 1946-1954.
- Hiraishi, A & Y. Ueda. 1994. Intrageneric structure of the genus *Rhodobacter* : transfer of *Rhodobacter sulfidophilus* and related marine species to the genus *Rhodovulum* gen.nov. Int.J.Syst.Bacteriol. 44(1):15-23.
- Imhoff, J.F., Truper, H. G and N. Pfennig. 1984. Rearrangement of the species and genera of the phototrophic purple nonsulphur bacteria. Int.J.Syst.Bacteriol. 34(3):340-343.

- Jukes, T. H and C. R. Cantor. 1969. Evolution of protein molecules. In Munro H. N, editor, *Mamalian Protein Metabolism*. Pp.21-132, Academic Press, New York.
- Nomura, Y., Izumi, A., Fukunaga, Y., Kusumi, K., Iba, K., Watanabe, S., Nakahira, Y., Weber, A. P. M., Nozawa, A and Y. Tozawa. 2014. Diversity of Guanosine 3', 5'- Bisphosphate (ppGpp) Sensitivity among Guanylate Kinases of Bacteria and Plants. *J.Biological Chemistry* 289(22) : 15631-15641.
- Ramana, V. V., AKumar, A. P., Srinivas, T. N., Sasikala, C and C. V. Ramana. 2009. *Rhodobacter aestuarii* sp. nov., a phototrophic alphaproteobacterium isolated from an estuarine environment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 59 : 1133-1136.
- Richardson, J. P. 2003. Loading Rho to Terminate Transcription. *Cell*. 144:157-159.
- Saitou, N and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-422.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M and S. Kumar. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *MolBiolEvol* 28:2731-2739.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G and T. J. Gibson. 1994. Clustal W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research* 22(22):4673-4680.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A and D. J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J.bacteriol.* 173(2) : 697-703.