

**DETEKSI KEBERADAAN BAKTERI  
PENDEGRADASI FENANTRENA DARI TANAH  
TERCEMAR PADA RHIZOSFER *Setaria palmifolia*  
BERDASARKAN METATRANSKRIPSI  
EKSPRESI GEN *phnB***

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



disusun oleh:  
Khoirul Anam  
12640013

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN SUNAN KALIJAGA  
YOGYAKARTA  
2019**

**Deteksi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Fenantrena dari Tanah Tercemar  
Pada Rhizosfer *Setaria palmifolia* Berdasarkan Metatranskriptomik  
Ekspresi Gen *phnB***

Khoirul Anam  
12640013

**Abstrak**

Pertumbuhan penduduk yang terus meningkat secara tidak langsung berdampak pada meningkatnya jumlah polusi di lingkungan. Polutan yang menjadi perhatian dewasa ini adalah fenantrena, yaitu suatu senyawa yang termasuk dalam kategori *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) dan bersifat karsinogenik. Banyak bakteri diketahui mampu mendegradasi fenantrena menjadi senyawa atau bahkan unsur yang non-toksik, namun hanya sedikit yang mampu dikultivasi dengan teknik standar. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh RNA total hasil isolasi langsung sampel tanah pada rhizosfer *Setaria palmifolia* serta mengetahui ekspresi gen *phnB* pada bakteri tanah yang terlibat dalam degradasi polutan fenantrena. Sampel tanah diambil dari tiga tempat yang berbeda, yaitu dari bantaran Sungai Gajahwong, Sungai Code dan Sungai Opak. Isolasi RNA total menggunakan gabungan dua metode isolasi yang berbeda. Pada tahap selanjutnya metode yang digunakan adalah *Reverse Transcription and Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan primer yang didesain berdasarkan gen *phnB*. Data dianalisis menggunakan perhitungan konsentrasi serta kemurnian RNA hasil isolasi dari sampel lingkungan dan melihat kemunculan ada tidaknya amplicon yang dihasilkan dari amplifikasi gen *phnB* pada visualisasi *gel doc*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ketiga sampel tanah yang diuji (Sungai Gajahwong, Sungai Code dan Sungai Opak) secara berturut-turut menghasilkan nilai konsentrasi RNA total sebesar  $38,42 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $46,90 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , dan  $53,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , serta nilai kemurnian  $\infty/2,10$ ;  $1,78/1,29$  dan  $1,30/\infty$ . Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan panjang pita DNA pada hasil *gel doc* menunjukkan besar amplicon yang berbeda dari ketiga sampel yaitu pada sampel Sungai Gajahwong sebesar 177 bp, serta pada sampel Sungai Code dan Sungai Opak sebesar 193 bp, yang dimungkinkan berasal dari mayoritas bakteri gram positif. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat sejumlah komunitas bakteri pendegradasi fenantrena di area rhizosfer *Setaria palmifolia*.

*Kata Kunci:* Fenantrena, RT-PCR, Degradasi, Gen *phnB*, Rhizosfer, *Setaria palmifolia*

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Khoirul Anam

NIM : 12640013

Program Studi : Biologi

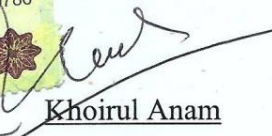
Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 22 Januari 2019

Yang menyatakan,



  
Khoirul Anam

NIM. 12640013



## **SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Khoirul Anam

NIM : 12640013

Judul Skripsi : Deteksi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Fenantrena Dari Tanah  
Tercemar Pada Rhizosfer *Setaria palmifolia* Berdasarkan Metatranskriptomik  
Ekspresi Gen *phnB*

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum wr. wb.*

Yogyakarta, 22 Januari 2019

Pembimbing I

Jumailatus Solihah, S.Si., M. Biotech.

NIP. 19760624 200501 2 007



## **SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Khoirul Anam

NIM : 12640013

Judul Skripsi : Deteksi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Fenantrena Dari Tanah Tercemar Pada Rhizosfer *Setaria palmifolia* Berdasarkan Metatranskriptomik Ekspresi Gen *phnB*

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum wr. wb.*

Yogyakarta, 22 Januari 2019

Pembimbing II

Dr. Arifah Khusnuryani, M.Si

NIP. 19750515 200003 2 001



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-583/Un.02/DST/PP.00.9/02/2019

Tugas Akhir dengan judul : Deteksi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Fenantrena dari Tanah Tercemar pada Rhizosfer *Setaria palmifolia* Berdasarkan Metatranskriptomik Ekspresi Gen *phnB*

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : KHOIRUL ANAM  
Nomor Induk Mahasiswa : 12640013  
Telah diujikan pada : Kamis, 07 Februari 2019  
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR

Ketua Sidang

Jumilatus Solihah, S.Si., M.Si.  
NIP. 19760624 200501 2 007

Penguji I

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.  
NIP. 19750515 200003 2 001

Penguji II

Muhammad Wisnu, M.Bio.Tech.  
NIP. 19810923 000000 1 301

Yogyakarta, 07 Februari 2019

UIN Sunan Kalijaga

Fakultas Sains dan Teknologi

DEKAN



Dr. Murtono, M.Si.

NIP. 19691212 200003 1 001

MOTTO



...ကံလာဇာံ ကုဏကုဏာ၂က အိဏံ ပာံ  
 ဟာက အိဏာလံ၊ ဟာကဟကုဏာ၂ကုဏာ၂၊  
 ဟာကဟာဏာ၂၊ ဟာကံ လာဏာက အုဏာ၂  
 ဝိဏံက လုဏာဏာ

(-- အုဏံကုဏာ၂ ကုဏာဏာ၂ --)

*Kebenaran manusia hanya bernilai relatif  
 sesuai sudut pandang, cara pandang, jarak pandang,  
 dan resolusi pandang dari masing-masing individu*

( Sabrang MDP )

"Success is doing what you want to do,  
 when you want, where you want,  
 with whom you want, as much as you want"

-Anthony Robbins-

## PERSEMBAHAN

*Karya yang sangat sederhana ini diperuntukkan kepada Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan motivasi, arahan, dukungan dan do'a tanpa henti-hentinya, kepada Bapak yang senantiasa memberikan tauladan serta harapan dan do'anya yang tersirat dalam setiap diamnya, serta tanpa terkecuali kepada Saudara kembar yang senantiasa memberikan semangat untuk menyelesaikan tulisan ini.*





## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Swt. atas segala nikmat karunia *rahman* dan *rahim-Nya* sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sebagai salah satu syarat untuk menempuh jenjang Strata 1 (S-1) pada Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Tugas akhir ini berjudul “Deteksi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Fenantrena dari Tanah Tercemar pada Rhizosfer *Setaria palmifolia* Berdasarkan Metatranskriptomik Ekspresi Gen *phnB*”. Dalam pelaksanaan kegiatan penelitian secara langsung serta penyusunan tugas akhir ini penulis menyadari banyaknya pihak yang turut serta membimbing dan membantu, untuk itu dalam hal ini penulis ingin berterimakasih kepada :

1. Bapak Dr. Murtono, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga yang telah menyediakan fasilitas demi kelancaran penulis dalam menjalani penelitian serta penyusunan tugas akhir ini.
2. Ibu Erny Qurotul Ainy, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi yang telah memberikan izin bagi penulis untuk melaksanakan penelitian.
3. Ibu Jumailatus Solihah, M.Biotech. selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, masukan-masukan dengan sabar dan juga senantiasa meluangkan waktu kepada penulis sehingga pada akhirnya mampu menyelesaikan tugas akhir ini.
4. Ibu Dr. Arifah Khusnuryani M.Si. selaku dosen penasehat akademik serta dosen pembimbing II yang telah memberikan nasihat, bimbingan dan semangat untuk menyelesaikan studi di waktu yang sesuai keadaan penulis.
5. Kedua orang tua dan saudara kembar yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat untuk terus melangkah maju.
6. Mbak Anif Yuni Muallifah, S.Pd.I. dan Mbak Ethik Susilawati P, S.Si. selaku PLP yang telah memberikan arahan serta bimbingan dalam melakukan penelitian.
7. Seluruh Dosen yang mengampu mata kuliah di Program Studi Biologi.

8. Seluruh teman-teman Biologi, khususnya sahabat “Private” (Ibnatun Rif’ah, Dryah Purwaningsih, Imalatun Ni’mah, Siti Shoffatul M, Ana Wahyuni, Atqiya Muslihati, Imam Syafi’i, Zainul Laily, Ahmad Arsyadi) yang telah bersedia menjadi keluarga bagi penulis di Yogyakarta
9. Serta seluruh orang yang telah bertemu dan berinteraksi dengan penulis selama di Kota Yogyakarta, yang menjadikan hal itu sebagai “*utang roso*”-nya penulis dan dengan berat hati tidak bisa disebutkan satu per satu dalam tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih memiliki banyak kekurangan. Masukan-masukan berupa kritik konstruktif dan saran dari pembaca sangat diharapkan sebagai bahan pertimbangan untuk perbaikan kualitas tugas akhir ini. Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat serta pengetahuan terutama bagi penulis dan pembaca.

Yogyakarta, November 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
ABSTRAK .....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN .....	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI .....	iv
HALAMAN PENGESAHAN .....	vi
MOTTO .....	vii
PERSEMBAHAN .....	viii
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	6
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
A. Fenentrena .....	7
B. <i>Setaria palmifolia</i> .....	10
C. Metatranskriptomik .....	13
BAB III METODE PENELITIAN .....	17
A. Waktu dan tempat Penelitian .....	17
B. Alat dan Bahan .....	17
C. Prosedur Kerja .....	18
D. Analisis Data .....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	24
A. Konsentrasi dan Kemurnian RNA .....	24
B. Amplifikasi Gen <i>phnB</i> .....	28
BAB V PENUTUP .....	36

A. Kesimpulan .....	36
B. Saran .....	36
Daftar Pustaka .....	37
Lampiran .....	43



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi reagen amplifikasi.....	21
Tabel 2. Program PCR .....	22
Tabel 3. Konsentrasi dan kemurnian RNA total yang diekstraksi dari bakteri tanah komunitas rhizosfer <i>Setaria palmifolia</i> .....	26
Tabel 4. Hasil uji <i>in silico</i> PCR dengan menggunakan MFEprimer2.0 ( <a href="http://biocompute.bmi.ac.cn/CZlab/MFEprimer-2.0/">http://biocompute.bmi.ac.cn/CZlab/MFEprimer-2.0/</a> ) .....	31



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur fenantrena .....	7
Gambar 2. Jalur metabolisme fenantrena .....	9
Gambar 3. <i>Setaria palmifolia</i> .....	10
Gambar 4. Proses metatranskriptomik .....	16
Gambar 5. Hasil elektroforesis amplifikasi gen <i>phnB</i> .....	29



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Reagen.....	43
Lampiran 2. Perhitungan ukuran asam nukleat.....	45
Lampiran 3. Peta Lokasi Pengambilan Sampel dan Gambar Habitus	
<i>Setaria palmifolia</i> .....	46
a. Sungai Gajahwong.....	46
b. Sungai Code .....	47
c. Sungai Opak .....	48



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Peningkatan pertumbuhan penduduk yang terus meningkat berbanding lurus dengan peningkatan polusi di lingkungan. Pada daerah perkotaan sebagai destinasi arus urbanisasi, peningkatan sumber polusi secara signifikan terjadi pada berbagai sektor, terutama industri dan transportasi. Kota Yogyakarta tidak hanya merupakan kota pelajar, akan tetapi juga sebagai kota budaya dan pariwisata, menjadikannya sebagai salah satu kota tujuan para pendatang dari berbagai daerah, sehingga secara tidak langsung menyumbang tingkat polusi di lingkungan. Selain itu, padatnya pemukiman penduduk juga memiliki andil cukup besar dalam sumbangsih pencemaran lingkungan dengan limbah rumah tangga yang dihasilkan.

Peningkatan polutan di lingkungan dewasa ini tidak sebanding dengan laju penguraian senyawa polutan toksik kompleks menjadi senyawa sederhana pada level di bawah ambang batas toleransi ekosistem biotik. Polutan penting dan sering ditemukan di berbagai media lingkungan seperti udara, tanah, air, dan sedimen adalah *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) merupakan kelompok senyawa organik yang terdiri dari dua atau lebih cincin aromatik (Shen, 2014). PAH dan senyawa turunannya secara luas merupakan produk hasil pembakaran tidak sempurna dari bahan organik, tetapi sebagian besar dihasilkan oleh aktivitas manusia. Dalam beberapa dekade terakhir sumber utama polusi PAH adalah limbah industri,



transportasi, residu pembakaran, gasifikasi dan pembakaran sampah plastik (Mrozik *et al.*, 2003). Keberadaan PAH di lingkungan menjadi perhatian karena bersifat toksik, mutagenik, dan karsinogenik untuk mikroba serta organisme tingkat tinggi termasuk manusia (Samanta *et al.*, 2002).

PAH yang sering dijumpai pada areal tanah adalah fenantrena (*phenanthrene*), yaitu PAH bercincin tiga, dikenal sebagai fotosensitizer kulit dan alergen ringan bagi manusia (Arbabi *et al.*, 2009). Fenantrena dapat terserap ke dalam tanah kaya bahan organik dan sedimen, dapat terakumulasi dalam ikan dan organisme air lainnya, serta dapat ditransfer ke manusia melalui konsumsi makanan (Mrozik *et al.*, 2003).

Metabolisme fenantrena melibatkan enzim-enzim yang disandi oleh klaster gen *phn*. Enzim-enzim yang disandi oleh klaster gen *phn* merupakan serangkaian gen penyandi enzim yang berperan dalam proses degradasi fenantrena. Salah satu gen pada klaster gen *phn* yang terlibat dalam degradasi fenantrena adalah gen *phnB* (Laurie dan Lloyd-Jones, 1999). Gen *phnB* merupakan gen yang menyandi enzim *dihidrodiol dehidrogenase* yang berperan mengubah senyawa *cis-3,4-fenantrenadihidrodiol* menjadi *3,4-dihidroksi-fenantrena* (Mallick *et al.*, 2007; Singleton *et al.*, 2009). Gen *phnB* telah digunakan sebagai sarana deteksi keberadaan klaster gen *phn* dengan menggunakan primer yang didesain dari sekuens gen ini. Penelitian yang dilakukan oleh Singleton *et al.*, (2009) berhasil memperoleh ampikon berukuran 187 bp pada spesies bakteri *Acidovorax* sp. strain NA3.

Upaya yang dilakukan untuk mengurai polutan senyawa PAH di lingkungan dan menjadikan senyawa PAH berada pada tingkat di bawah ambang batas toleransi biotik, salah satunya adalah dengan bioremediasi. Bioremediasi merupakan suatu bentuk upaya dalam mendegradasi atau mendetoksifikasi substansi tertentu yang berbahaya bagi manusia serta lingkungan dengan penggunaan organisme hidup seperti tumbuhan, fungi, dan bakteri (Chowdhury *et al.*, 2012). Secara alami PAH dapat mengalami absorpsi, penguapan, fotolisis, dan degradasi kimia, namun degradasi mikroba adalah proses degradasi utama. Degradasi PAH tergantung pada kondisi lingkungan, jumlah dan jenis mikroba, sifat dan struktur kimia dari senyawa kimia yang terdegradasi (Haritash dan Kaushik, 2009). Sejumlah spesies bakteri yang dikenal mampu mendegradasi PAH di lingkungan, mayoritas dapat dijumpai di sekitar tanah atau sedimen yang terkontaminasi. *Arthrobacter* sp., *Acidovorax* sp., *Brevibacterium* sp., dan *Pseudomonas* sp. adalah beberapa bakteri yang diketahui memiliki kemampuan untuk memanfaatkan fenantrena sebagai sumber karbon dan energi (Samanta *et al.*, 1999).

Potensi yang ditawarkan oleh mikroba sangat tinggi, termasuk mikroba yang mampu mendegradasi polutan seperti fenantrena, namun hanya sebagian kecil dari yang ada di alam mampu dikultivasi dengan teknik standar sehingga informasi genetik serta potensi bioteknologi dari sebagian besar mikroba belum mampu dimanfaatkan dengan teknik konvensional (Purohit dan Singh, 2009). Salah satu cara untuk mengungkap informasi genetik tersebut adalah dengan teknik metatranskriptomik. Metatranskriptomik merupakan suatu teknologi untuk

karakterisasi fungsional mikroba kompleks (mikrobiom) yang berhubungan dengan transkriptom dari komunitas mikroba sampel langsung dari lingkungan (Jiang *et al.*, 2016; Pascault *et al.*, 2015). Analisis metatranskriptomik memberikan informasi tentang bagaimana komunitas mikroba bereaksi terhadap perubahan lingkungan (Leung *et al.*, 2014).

Kemampuan mikroba dalam mendegradasi senyawa polutan sangat dipengaruhi oleh keberadaan nutrisi di lingkungan. Dengan adanya nutrisi yang cukup melimpah, memungkinkan adanya peningkatan jumlah serta aktivitas metabolisme mikroba. Salah satu penyebab lingkungan menjadi kaya akan nutrisi untuk merangsang aktivitas mikroba adalah eksudat akar tumbuhan. Komposisi kandungan eksudat akar tumbuhan adalah berupa asam amino, gula, asam organik, vitamin, asam lemak dan sterol (Vacura dan Hovadik, 1965; Ahmad *et al.*, 2011), sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi dan merupakan bentuk simbiosis antara akar tumbuhan dengan mikroba.

Simbiosis antara akar tumbuhan dan mikroba merupakan suatu bentuk kombinasi antara dua pendekatan yaitu fitoremediasi dan bioaugmentasi yang disebut sebagai rhizoremediasi. Selama proses rhizoremediasi, eksudat yang berasal dari tumbuhan dapat membantu merangsang kelangsungan hidup dan aktivitas mikroba, yang selanjutnya menghasilkan degradasi polutan yang lebih efisien. Sistem akar tumbuhan dapat membantu untuk menyebarkan mikroba melalui tanah dan membantu untuk menembus lapisan tanah yang *impermeable* (Kuiper *et al.*, 2004). Salah satu spesies tumbuhan yang cocok untuk rhizoremediasi polutan PAH adalah dari varietas rumput (Aprill dan Sims, 1990).

Liu *et al.* (2014), melaporkan bahwa isolat bakteri yang diambil dari kolonisasi pada permukaan akar *ryegrass* (*Lolium multiflorum* Lam) yang menginvasi jaringan akar internal dan tertranslokasi ke tunas, mampu mendegradasi fenantrena. Laporan lain juga mengungkapkan bahwa *Setaria* sp. mampu menurunkan kadar *total petroleum hydrocarbon* (TPH) sebesar 36,34% pada tanah yang tercemar minyak bumi (Salim dan Suryati, 2014).

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan oleh penulis sebelum pengambilan sampel, *Setaria palmifolia* atau *palmgrass* mampu bertahan hidup dan mendominasi di lingkungan tercemar limbah organik yang ditandai dengan tercium bau menyengat dari perairan Sungai Gajahwong bagian hilir. Hal tersebut dimungkinkan adanya suatu hubungan antara mikroba *indigenous* dengan *Setaria palmifolia* untuk terus dapat bertahan hidup di lingkungan tercemar. Perlu adanya suatu kajian analisis fungsi gen penyandi enzim pendegradasi PAH (senyawa organik) khususnya fenantrena yang dimiliki oleh bakteri di sekitar rhizosfer *Setaria palmifolia*, yang selanjutnya dapat dimanfaatkan untuk bioremediasi, khususnya degradasi PAH jenis fenantrena pada lingkungan yang tercemar dengan tingkat degradasi yang lebih tinggi.

## **B. Rumusan Masalah**

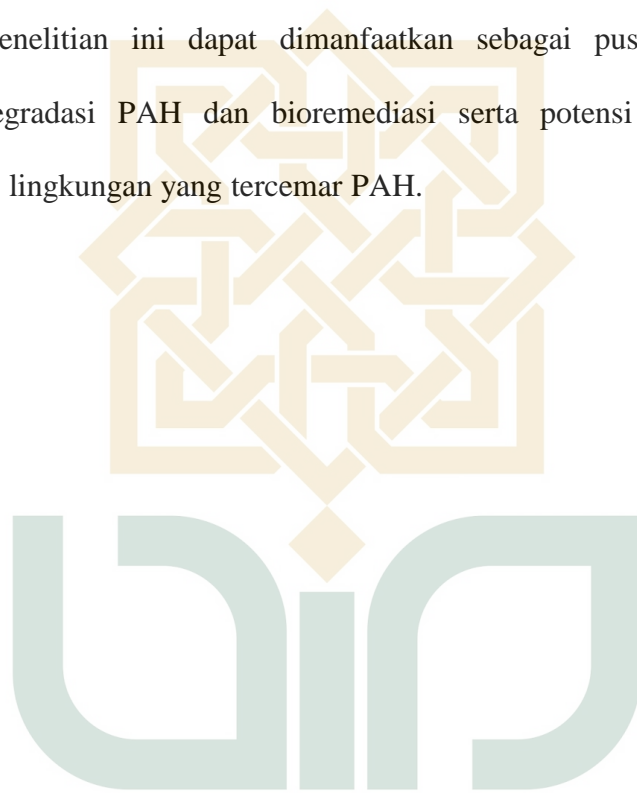
1. Seberapa besar RNA total yang didapat dari hasil isolasi sampel tanah pada rhizosfer *Setaria palmifolia*?
2. Bagaimana ekspresi gen *phnB* pada bakteri tanah yang terlibat dalam degradasi polutan PAH (fenantrena)?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Memperoleh RNA total hasil isolasi secara langsung dari sampel tanah pada rhizosfer *Setaria palmifolia*.
2. Mengetahui ekspresi gen *phnB* pada bakteri tanah yang terlibat dalam degradasi polutan PAH (fenantrena).

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai pustaka acuan terkait wawasan degradasi PAH dan bioremediasi serta potensi aplikasinya untuk bioremediasi lingkungan yang tercemar PAH.



## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Diperoleh RNA total dari sampel tanah rhizosfer *Setaria palmifolia* dengan nilai kemurnian pada rentang 1,2 hingga 2,1 dan nilai konsentrasi 23,45 µg/mL hingga 70,36 µg/mL.
2. Kemunculan amplicon DNA target (177 dan 193 bp) dari semua sampel menandakan adanya ekspresi gen target, sehingga dapat menunjukkan adanya sejumlah komunitas bakteri pendegradasi fenantrena di area rhizosfer *Setaria palmifolia*.

#### B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka penulis mengajukan beberapa saran berikut:

1. Perlu dilakukan optimasi metode isolasi RNA agar diperoleh tingkat kemurnian dan konsentrasi yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan optimasi pada tahap amplifikasi terutama pada variasi volume komposisi reagen.

## Daftar Pustaka

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1990. *Public Health Statement, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Atlanta, GA: U.S.Department of Health and Human Services.
- Ahmad, F., Husain, F.H., dan Ahmad, I. 2011. Rhizosphere and Root Colonization by Bacterial Inoculants and Their Monitoring Methods: A Critical Area in PGPR Research. *Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications*. Springer Science+Business Media, LLC.
- Aprill, W., dan Sims, R.C. 1990. Evaluation of The Use of Prairie Grasses For Stimulating Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Treatment In Soil. *Chemosphere*. 20: 253-265
- Aranda, I.V.R., Dineen, S., Craig, R.L., Guerrieri, R.A., Robertson, J.M., 2009. Comparison and evaluation of RNA quantification methods using viral, prokaryotic, and eukaryotic RNA over a 104 concentration range. *Anal Biochem*. 387(1):122-127.
- Arbabi, M., Nasser, S., dan Chimezie, A. 2009. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Petroleum Contaminated Soils. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 28 (3) : 53-59.
- Bailly, J., Fraissinet-Tachet, L., Verner, M.C., Debaud, J.C., Lemaire, M., Wesolowski-Louvel, M., dan Marmeisse, R. 2007. Soil eukaryotic functional diversity, a metatranscriptomic approach. *ISME J.* 1:632–642.
- Barnum, S.R. 2005. *Biotechnology an Introduction 2nd Ed.* USA: Brooks/Cole.
- Barnsley, E.A. 1983. Phthalate Pathway of Phenanthrene Metabolism: Formation of 2'-Carboxybenzalpyruvate. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*. 154(1): 113-117
- BPDAS Serayu Opak Progo. 2002. *Profil Daerah Aliran Sungai*. Yogyakarta: Author.
- Cerniglia, C.E., dan Sutherland, J.B. 2010. *Handbook of hydrocarbons and lipid microbiology*. Germany: Berlin Heidelberg.
- Chowdhury, S., Bala, N.N., dan Dhauria, P. 2012. Bioremediation-A Natural Way for Cleaner Environment. *IJPCBS*. 2 (4): 600-611.
- Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., dan Knight, R. 2012. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell*. 148: 1258-1270.

- Cole, R. J., Litton, C. M., Koontz, M. J., & Loh, R. K. 2012. Vegetation recovery 16 years after feral pig removal from a wet Hawaiian forest. *Biotropica*. 44(4) : 463-471.
- Dekker, J. 2003. The Foxtail (*Setaria*) Species-Group. *Weed Science*. 51(5): 641-656.
- Deutscher, M.P. 2006. Degradation of RNA in bacteria: comparison of mRNA and stable RNA. *Nucleic Acids Research*. 34 (2): 659–666.
- Dutta, S. K. 1965. Weed control in tea of North East India. *International Journal of Pest Management C*. 11(1) : 9-12
- Embree, M., Nagarajan, H., Movahedi, N., Chitsaz, H., dan Zengler, K. 2013. Single-cell genome and metatranscriptome sequencing reveal metabolic interactions of an alkane-degrading methanogenic community. *ISME J*. 8:757–767.
- Gosalbes, M.J., Durban, A., Pignatelli, M., Abellan, J.J., Jimenez-Hernandez, N., Perez-Cobas, A.E., Latorre, A., dan Moya, A. 2011. Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. *PLoS One*. 6(3):e17447.
- Güell, M., Yus, E., Lluch-Senar, M., dan Serrano, L. 2011. Bacterial transcriptomics: What is beyond the RNA hori-zome?. *Nature Reviews Microbiology*. 9: 658-669.
- Haritash, A.K., dan Kaushik, C.P. 2009. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*. 169 : 1–15.
- Harrington, R. A., & Ewel, J. J. 1997. Invasibility of tree plantations by native and non-indigenous plant species in Hawaii. *Forest Ecology and Management*. 99(1-2) : 153-162
- Helling, R.B., Goodman, H.M., dan Boyer, H.W. 1974. Analysis of endonuclease R-*EcoRI* fragments of DNA from lambdoid bacteriophages and other viruses by agarose-gel electrophoresis. *J.Virol*. 14: 1235-1244
- Helling, R.B., Goodman, H.M., dan Boyer, H.W. 1974. Analysis of endonuclease R-*EcoRI* fragments of DNA from lambdoid bacteriophages and other viruses by agarose-gel electrophoresis. *J. Virol*. 14: 1235-1244.
- Hickey, W.J., Chen, S., dan Zhao, J. 2012. The phn island: a new genomic island encoding catabolism of polynuclear aromatic hydrocarbons. *Frontiers in Microbiology*. 3(125): 1-15



- Horison, C., Rustikawati, dan Eliyanti. 2003. Penentuan protokol yang tepat untuk menyiapkan DNA genom cabai. *Jurnal Akta Agrosia*. 6(2): 38-43.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2010. *Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures*. Lyon, France: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.
- Jiang, Y., Xiong, X., Danska, J., dan Parkinson, J. 2016. Metatranscriptomic analysis of diverse microbial communities reveals core metabolic pathways and microbiomespecific functionality. *Microbiome*. 4 (2) : 1-18
- Kami, H. T. 1966. Foods of rodents in the Hamakua District, Hawaii. *Pacific Science*. 20: 367-373
- Kays, S.J. 2011. Latin Binomials and Synonyms. *Cultivated Vegetables of the World: a Multilingual Onomasticon*. Wageningen Academic Publishers
- Komolafe, D. A. 1976. Weed problems in tree crops in Nigeria. *International Journal of Pest Management*. 22(2): 250-256
- Kuiper, I., Lagendijk, E. L., Bloemberg, G. V., dan Lugtenberg, B. J. J. 2004. Rhizoremediation: A Beneficial Plant-Microbe Interaction. *MPMI*. 17 (1): 6–15.
- Laurie, A.D., dan Lloyd-Jones, G. 1999. The phn Genes of Burkholderia sp. Strain RP007 Constitute a Divergent Gene Cluster for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Catabolism. *Journal Of Bacteriology*. 181(2): 531–540
- Leininger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G.W., Prosser, J.I., Schuster, S.C., dan Schleper, C. 2006. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*. 442(7104): 806–809.
- Leung, H.C.M., Yiu, S.M., dan Chin, F.Y.L. 2014. IDBA-MTP: A Hybrid MetaTranscriptomic Assembler Based on Protein Information. *RECOMB*. LNBI 160–172. Springer International Publishing Switzerland
- Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J., dan Kinard, G. 2008. A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogen. *J Virol Methods*. 154(2-3):55-58.
- Liu, J., Liu, S., Sun, K., Sheng, Y., Gu, Y., Gao, Y. 2014. Colonization on Root Surface by a Phenanthrene-Degrading Endophytic Bacterium and Its Application for Reducing Plant Phenanthrene Contamination. *PLOS ON*. 9 (9) : 1-8

- Mallick, S., Chatterjee, S., dan Dutta, T.K. 2007. A novel degradation pathway in the assimilation of phenanthrene by *Staphylococcus* sp. *Microbiology*.153 : 2104-2115.
- Mendum, T.A., Sockett, R.E. dan Hirsch, P.R. 1998. The detection of gram-negative bacterial mRNA from soil by RT-PCR. *FEMS Microbiol Lett.* 164: 369–373.
- Moody, K. 1989. *Weeds Reported in Rice in South and Southeast Asia*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines
- Moreno-Casasola, P., Rosas, H. L., dan Rodríguez-Medina, K. 2014. From tropical wetlands to pastures on the coast of the gulf of Mexico. *Pastos*. 42 (2) : 185-217
- Mrozik, A., Seget, Z.P., dan Labuzek, S. 2003. Bacterial Degradation and Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Polish Journal of Environmental Studies*.12 (1): 15-25
- Murray, M.G., dan Thompson, W.F. 1980. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.* 8:4321-4325.
- Mustafa, H., Rachmawati, I., dan Udin, Y. 2016. Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA Genom Nyamuk Anopheles barbirostris. *Jurnal Vektor Penyakit*. 10(1): 7-10.
- Neff, J.M. 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment.sources, fate and biological Effects. *Applied Science Publishers Ltd*. London
- Ohsawa, M. 1982. Weeds of tea plantations. In *Biology and ecology of weeds*. (pp. 435-448). Springer, Netherlands
- Parker, C. (2012). *Setaria palmifolia* (*palm grass*). Diakses 19 Oktober 2017, dari <http://www.cabi.org/isc/datasheet/119079>
- Parro, V., Moreno-Paz, M., dan González-Toril, E. 2014. Analysis of environmental transcriptomes by DNA microarrays. *Environmental Microbiology*. 9(2): 453–464.
- Pascual, N., Loux, V., Derozier, S., Martin, V., Debroas, D., Maloufi, S., Humbert, J.F., dan Leloup, J. 2015. Technical Challenges in Metatranscriptomic Studies Applied to the Bacterial Communities of Freshwater Ecosystems. *Genetica*. 143:157–167

- Peimbert, M dan Alcaraz, L.D. 2016. A Hitchhiker's Guide to Metatranscriptomics. *Field Guidelines for Genetic Experimental Designs in High-Throughput Sequencing*. Switzerland : Springer International Publishing.
- Prieto, A.I., Kahramanoglou, C., Ali, R.M., Fraser, G.M., Seshasayee, A.S., dan Luscombe, N.M. 2012. Genomic analysis of DNA binding and gene regulation by homologous nucleoid-associated proteins IHF and HU in *Escherichia coli* K12. *Nucleic Acids Research*. 40(3): 3524–3537.
- Purohit, M.K., dan Singh, S.P. 2009. Assessment of various methods for extraction of metagenomic DNA from saline habitats of coastal Gujarat (India) to explore molecular diversity. *Letters in Applied Microbiology*. 49 : 338–344
- Ranjan, R., Rani, A., dan Kumar, R. 2015. Exploration of Microbial Cells: The Storehouse of Bio-wealth Through Metagenomics and Metatranscriptomics. *Microbial Factories*. Springer India
- Rhoades, C.C., Eckertl, G.E. & Coleman, D.C. 1998. Effect of Pasture Trees on Soil Nitrogen and Organic Matter: Implications for Tropical Montane Forest Restoration. *Restoration Ecology*. 6(3): 262-270
- Risyanto dan Widyastuti, M. 2004. Pengaruh Perilaku Penduduk Dalam Membuang Limbah Terhadap Kualitas Air Sungai Gajahwong. *Manusia dan Lingkungan*. 11( 2): 73-85.
- Saha, S., Tan, H., Karaca, M., & Jenkins, J. N. 1999. Gel Based DNA Marker Technologies in Cotton. *ICAC Recorder*. 8-13
- Sahu, S.K., Thangaraj, M., dan Kathiresan, K. 2012. DNA extraction protocol for plant with high levels of secondary metabolites and polysaccharides without using liquid nitrogen and phenol. *ISRN Molecular Biology*. Volume 2012: 1-6.
- Salim, F dan Suryati, T. 2014. Fitoremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi Menggunakan Empat Jenis Rumput. *Jurnal Riset Industri*. 8 (2) : 123 – 128.
- Samanta, S.K., Chakraborti, A.K., dan Jain, R.K. 1999. Degradation of phenanthrene by different bacteria: evidence for novel transformation sequences involving the formation of 1-naphthol. *Appl Microbiol Biotechnol*. 53: 98-107.
- Samanta, S.K., Singh, O.V., dan Jain, R.K. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *TRENDS in Biotechnology*. 20(6) : 243-248.

- Santos, C.F., Sakai, V.T., Machado, M.A.A.M., Schippers, D.N., dan Greene, A.S. 2004. Reverse Transcription And Polymerase Chain Reaction: Principles And Applications In Dentistry. *J Appl Oral Sci.* 12(1): 1-11.
- Scarano, D. & Rao, R. 2014. DNA Markers for Food Products Authentication. *Diversity.* 6: 579-596.
- Shen, G. 2014. Emission Factors of Carbonaceous Particulate Matter and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Residential Solid Fuel Combustions. *Springer Theses.* China: Peking University.
- Singleton, D.R., Ramirez, L.G., dan Aitken., M.D. 2009. Characterization of a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation Gene Cluster in a Phenanthrene-Degrading *Acidovorax* Strain. *Applied And Environmental Microbiology.* 75 (9) : 2613-1620
- U.S. Fish and Wildlife Service. 2002. Endangered and Threatened Wildlife and Plants; Designations of Critical Habitat for Plant Species From the Island of Oahu, HI. *Federal Register.* 67 (102): 37108-37272
- Vacura, A., dan Hovadik, A. 1965. Root Exudates of Plants: II. Composition of Root Exudates of Some Vegetables. *Plant and Soil.* 22 (1) : 21-32
- Veldkamp, J. F. 1994. Miscellaneous notes on southeast Asian Gramineae. IX. *Setaria* and *Paspalidium*. *Blumea.* 39 (1/2) : 373-384
- Wei, S., dan Pan, S. 2010. Phytoremediation for soils contaminated by phenanthrene and pyrene with multiple plant species. *J Soils Sediments.* 10:886-894
- Widodo, B., Kasam, Ribut, L., dan Ike, A. 2013. Strategi Penurunan Pencemaran Limbah Domestik di Sungai Code DIY. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan.* 5(1): 36-47
- Wilson, K.1997. *Preparation of Genomic DNA from Bacteria.* Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons, Inc.
- Winfrey, M.R., Rott, M.A., Wortman, A.T., 1997. *Unraveling DNA: Molecular Biology for the Laboratory.* New Jersey. Prentice-Hall, Upper Saddle River.
- Yuwono, T. 2009. *Biologi Molekular.* Jakarta (ID): Erlangga.