

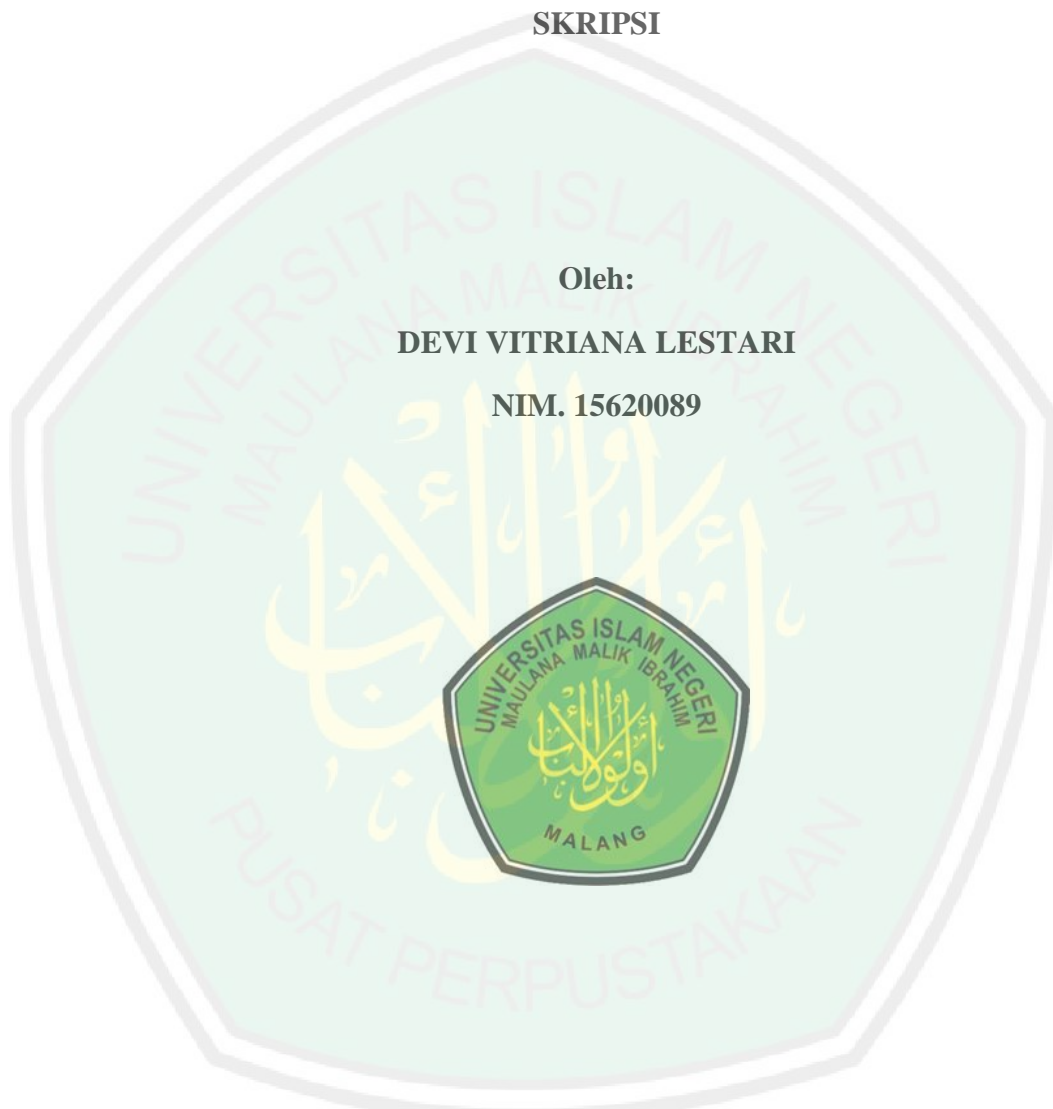
**DETEKSI GEN SELENOMETIL TRANSFERASE (*smt*) PADA ISOLAT
BAKTERI RESISTEN SELENIUM**

SKRIPSI

Oleh:

DEVI VITRIANA LESTARI

NIM. 15620089



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**DETEKSI GEN SELENOMETIL TRANSFERASE (*smt*) PADA ISOLAT
BAKTERI RESISTEN SELENIUM**

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan

dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh:

DEVI VITRIANA LESTARI

NIM. 15620089

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**DETEKSI GEN SELENOMETIL TRANSFERASE (*smt*) PADA ISOLAT
BAKTERI RESISTEN SELENIUM**

SKRIPSI

Oleh:

DEVI VITRIANA LESTARI

NIM. 15620089

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 5 Desember 2019

Pembimbing I,



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

Pembimbing II,



M. Mukhlis Fahrudin, M. S.I

NIPT. 20142011409

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc





NIP.19810201 200901 1 019

**DETEKSI GEN SELENOMETIL TRANSFERASE (*smt*) PADA ISOLAT
BAKTERI RESISTEN SELENIUM**

SKRIPSI

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 19 Desember 2019

Penguji Utama	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP.19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	Bayu Agung Prahardika, M.Si NIP.19900807 201903 1 011	
Sekretaris Penguji	Romaidi, M.Si., D.Sc NIP.19810201 200901 1 019	
Anggota Penguji	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 20142011409	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP.19810201 200901 1 019

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Devi Vitriana Lestari
NIM : 15620089
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi /Biologi
Judul Penelitian : Deteksi Gen Selenometil Transferase (*smt*) pada Isolat Bakteri Resisten Selenium

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 19 Desember 2019

Yang Membuat Pernyataan



Devi Vitriana Lestari

NIM. 15620089

MOTTO

“Ilmu yang bermanfaat dunia-akhirat dan akhlak yang baik sesungguhnya adalah yang paling utama. Keduanya membawa kenikmatan hakiki serta jalan menuju kebahagiaan”.

-(Abu Qudamah Asy-Siyami)-

“Kalian ikatlah ilmu dengan menuliskannya”

-(H.R. Ad-Darimi nomor 497)-

وما عند الله خير

(“Dan apa yang ada di sisi Allah, itu lebih baik”)

-(Q. S. Asy-Syura: 36)-



HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas kekuatan, kesabaran, cobaan dan nikmat yang dicurahkan dalam menuntut ilmu, shalawat dan salam senantiasa atas junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW yang selalu kami tunggu syafaatnya.

Karya ini kupersembahkan teruntuk mereka yang paling kucintai Bapak dan Ibuku yang tiada lelah mendo'akan dan mendukungku, mereka yang paling kusayangi Kakak serta kedua adikku, dan yang juga kupersembahkan karya ini untuk diriku di masa mendatang, sebagai pengingat untuk bahwa perjuangan, pengorbanan serta keikhlasan adalah harga dalam menuntut ilmu juga dalam melahirkan sebuah karya.

Semoga ilmu yang didapatkan selama masa menuntut ilmu hingga penyusunan karya ini terus melekat dan bermanfaat dunia-akhirat.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahnyalah penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan berjudul “**Deteksi Gen Selenometil Transferase (*smt*) pada Isolat Bakteri Resisten Selenium**”. Sholawat serta salam tak lupa terpanjatkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang memberikan bimbingan menuju jalan yang rahmat alil alamin.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak mampu terselesaikan jika tidak adanya bimbingan, arahan, dukungan dan support dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M. Ag. Selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si., D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus dosen pembimbing yang memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis akan penelitian skripsi ini.
4. M. Mukhlis Fakhruddin M.S.I selaku dosen pembimbing agama yang sudah bersabar, memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis akan penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Bayu Agung Prahardika, M.Si selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan saran, nasehat dan kritiknya untuk kelancaran penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh dosen, laboran, staf di jurusan biologi yang membantu memberikan kemudahan, terimakasih atas ilmu yang telah diberikan selama kurang lebih 4 tahun ini.
7. Kedua orang tua tercinta Bapak Tumiran dan Ibu Bibit Karunia, kakakku Dewi Zilviana serta kedua adikku Angga Nur Hidayah dan Deby Lustiana yang selalu mendoakan dan memberi support kepada penulis.
8. Teman-teman Biologi C 2015, tim Mikro dan Molekuler (Rhesma, Anita, Ina, Nina, Septian, Malik) dan senior (mas Hari, mas Khoiri, Mbak Diah) terima kasih telah menemaniku, mensupportku, mengiburku, dan membantuku, dan do'aku semoga kesuksesan menjadi hadiah kita nanti.
9. Sahabatku Binti, Mbak Izzah dan Umi, terima kasih atas doa yang kalian khususnya kepadaku.
10. Adek-adek angkatan 2016, 2017, dan 2018 terima kasih supportnya, semoga penelitian ini memberikan manfaat untuk kalian.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberi manfaat kepada pembacanya.
Aamiin.

Malang, 19 Desember 2019

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
البحث ملخص	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat	7
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Selenium	9
2.1.1 Toksisitas dan Pencemaran Selenium	11
2.1.2 Sumber-Sumber Selenium	14
2.1.3 Siklus Biogeokimia Selenium	17
2.2 Bioremediasi Selenium	20
2.3 Mekanisme Resistensi dan Akumulasi Selenium pada Bakteri	22

2.3.1 Reduksi Selenat (SeO4 ²⁻) dan Selenit (SeO3 ²⁻) serta Akumulasi Selenium pada Bakteri	22
2.3.2 Mekanisme Resistensi Bakteri Berdasarkan Reaksi Metilasi dan Volatilisasi	26
2.4 Gen Selenometil Transferase (<i>smt</i>)	30
2.5 Manfaat Deteksi Gen <i>smt</i> sebagai Obat Anti Kanker	35
BAB III METODE PENELITIAN	37
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	37
3.2 Waktu dan Tempat	37
3.3 Alat dan Bahan	37
3.3.1 Alat	37
3.3.2 Bahan	37
3.4 Prosedur Penelitian	38
3.4.1 Sterilisasi Alat	38
3.4.2 Pembuatan Media NA	38
3.4.3 Kultur Isolat Bakteri dalam Media NA	39
3.4.4 Isolasi DNA Genom pada Bakteri Resisten Selenium	40
3.4.5 Isolasi dan Amplifikasi DNA Gen <i>smt</i>	41
3.4.6 Uji Kualitatif Hasil Amplifikasi Gen <i>smt</i> dengan Elektroforesis	41
3.4.7 Uji Sekuensing Gen <i>smt</i>	42
3.5 Analisis Data	42
3.5.1 Analisis Data Hasil Penelitian	42
3.5.2 Analisis Integrasi Sains dan Islam	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Isolasi DNA Genom Bakteri dan Amplifikasi Gen <i>smt</i>	44
4.2 Hasil Analisis Homologi Gen <i>smt</i>	51
BAB V PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus Biogeokimia Berbagai Jenis Selenium.....	17
Gambar 2.2 Ringkasan Proses Biogeokimia Selenium di Alam	19
Gambar 2.3 Transformasi Resistensi Bakteri <i>Thauera selenatis</i> terhadap Selenium	23
Gambar 2.4 Akumulasi Partikel Se^0 yang Dibentuk oleh <i>B. selenitireducens</i> yang Ditumbuhkan dalam Selenit (SeO_3^{2-}).....	25
Gambar 2.5 Mekanisme Reduksi SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} secara Assimilatoris di dalam Sitoplasma	26
Gambar 2.6 Proses Metilasi Selenit (SeO_3^{2-}) pada Bakteri Methanogen.....	30
Gambar 2.7 Sekuen mRNA Gen SMTAb	35
Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis DNA Genom Bakteri	44
Gambar 4.2 Visualisasi Produk PCR Menggunakan Primer Gen <i>smt</i>	46
Gambar 4.3 Urutan Nukelotida Gen <i>smt</i> Isolat Bakteri IRS-1 dan IRS-2	49
Gambar 4.4 Susunan Filogenetik Hasil Alignment.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis bakteri penghasil gas selenium (DMSe dan DMDSe)	28
Tabel 2.2 Struktur Kimiawi Senyawa Selenoprotein	32
Tabel 2.3 Jenis-jenis selenoprotein terbaik sebagai kandidat penghambat kanker	36
Tabel 4.1 Hasil blast gen <i>smt</i> isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2.....	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Desain Penelitian	72
Lampiran 2. Pembuatan Stok Larutan Sodium Selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$)	73
Lampiran 3. Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri Resisten Selenium	74
Lampiran 4. Dokumentasi Proses Isolasi DNA	76
Lampiran 5. Hasil Sekuensing Gen <i>smt</i>	78
Lampiran 6. Analisis Hasil Sekuensing Gen <i>smt</i>	79



ABSTRAK

Lestari, D. Vitriana. 2019. Deteksi Gen Selenometil Transferase (*smt*) pada Isolat Bakteri Resisten Selenium. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Romaidi, M.Si., D.Sc. Pembimbing Agama: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata kunci: resistensi, akumulasi, selenium, gen resisten, selenometil transferase (*smt*)

Selenium merupakan unsur toksik dan berbahaya bagi makhluk hidup. Dua jenis selenium paling toksik yaitu selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) memiliki bilangan oksidasi yang tinggi dibandingkan jenis yang lain. Bakteri menjadi salah satu organisme yang mampu bertahan di lingkungan tercemar selenium dan memiliki mekanisme resistensi dan akumulasi di dalam tubuhnya. Resistensi pada bakteri disebabkan memiliki gen resisten terhadap logam selenium. Gen selenometil transferase (*smt*) merupakan salah satu gen resisten yang digunakan dalam mengkatalisis metilasi selenium toksik menjadi nontoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *smt* pada isolat bakteri yang resisten selenium dan mengetahui homologinya. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Media pertumbuhan bakteri yaitu NA yang diperkaya sodium selenit (NaSeO_3^{2-}) 10 mM dan LB untuk kultur cair. Tahapan dalam penelitian ini meliputi isolasi DNA genom dengan KIT, amplifikasi gen *smt* dengan primer spesifik gen *smt* dan sekuensing. Analisis data dengan BLAST NCBI dan pengolahan data rekonstruksi filogenetik dengan software BioEdit dan Mega6. Hasil amplifikasi dan sekuensing menunjukkan isolat bakteri memiliki gen *smt* dengan ukuran 118 bp dan 124 bp, memiliki kemiripan (homolog) dengan *Bacillus flexus* sebesar 96% dan tanaman *Astragalus bisulcatus* 100%.

ABSTRACT

Lestari, D. Vitriana. 2019. Detection of Selenomethyl Transferase Genes (*smt*) In Selenium Resistant Bacteria. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Biology Advisor: Romaidi, M.Si., D.Sc. Religious Counselor: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: *resistance, accumulation, selenium, resistance genes, selenomethyl transferase (smt)*

Selenium is a toxic and hazardous element of living things. There are two types of selenium, selenate (SeO_4^{2-}) and selenite (SeO_3^{2-}), both of them have the highest oxidation number among any other type of selenium. Bacteria being the one of resistant organisms that able to survive in selenium-polluted environments and have a detoxification mechanism and metal accumulation inside their body. Bacterial resistance is caused by their resistant gene toward selenium. The selenomethyl transferase (*smt*) gene is one of the genes that is used for catalyzing the methylation of toxic selenium into non-toxic one. The purposes of this study are detecting *smt* genes in bacterial isolates that have selenium-resistant and finding out their homology. Bacterial isolate that used for this study is obtained from Microbiology Laboratory Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. The bacterial growth medium is NA which is enriched with 10 mM sodium selenite and LB for liquid culture. The stages in this study including testing the effectiveness, macroscopic and microscopic identification, isolation of chromosomal DNA with kits, amplification *smt* gene using specific primer and sequencing. The data analysis is using BLAST, meanwhile the data processing is using BioEdit and Mega6 software. The results of the amplification and sequencing showed that the bacteria have *smt* gene with 118 bp and 124 bp of measurement and have a similarity with *Bacillus flexus* in the amount of 96% and the *Astragalus bisulcatus* in the amount of 100%.

ملخص البحث

ليستاري، د. فطريانا. 2019. الكشف الجيني للسيلينو ميثيل ترانسفيراز (**SELENOMETIL TRANSFERASE**) (*smt*) في عزل البكتيريا لمقاوم السيلينيوم. البحث الجامعي. قسم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الحكومية الإسلامية مالانج. المشرفة: الدكتورة رميدي ، الحج الماجستير، و الدكتور محمد مخلص فخرالدين ، الماجستير

الكلمات الرئيسية: المقاوم، التراكم ، السيلينيوم ، جين المقاوم، سيلينوسيسيتين ميثيل ترانسفيراز (*smt*) السيلينيوم هو عنصر سام وخطير للكائنات الحية. النوعان يحتويان الأكثر سمية ، السيلينات (SeO_4^{2-}) والسيلنيت (SeO_3^{2-}) ولها أعداد أكسدة عالية مقارنة بالأنواع الأخرى. تصبح البكتيريا واحدة من الكائنات الحية التي تقدر أن تبقى في بيئة ملوثة بالسيلينيوم ولديها آلية للمقاومة والتراكم في الجسم. سبب مقاومة البكتيريا هو بوجود جين مقاوم على معدن السيلينيوم. يعد جين سيلينوميثيل ترانسفيراز (*smt*) أحد الجينات المقاومة المستخدمة لتحفيز مثيلة السيلينيوم السام إلى غير سام. يهدف هذا البحث لان يكتشف جين سيلينوميثيل ترانسفيراز في عزل البكتيريا المقاومة للسيلينيوم وتحديد تماثلها. استخدمت العزلة البكتيرية من مجموعة مختبر الأحياء الدقيقة في جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. وسائط النمو البكتيرية وهي NA المخصب مع الصوديوم سيلينيت ($NaSeO_3^{2-}$) 10^{10} مم و LB للثقافة السائلة. تشمل المراحل في هذا البحث عزل الحمض النووي (DNA) الجيني مع KIT ، وتضخيم جين سيلينوميثيل ترانسفيراز التمهيدي محدد لجين سيلينوميثيل ترانسفيراز التسلسل. تحليل البيانات هو باستخدام بلاست (BLAST) NCBI ومعالجة بيانات إعادة الإعمار التسلسل مع برمجيات BioEdit و Mega6. دلت نتائج التضخيم أن العزل البكتيريا لديه جين سيلينوميثيل ترانسفيراز بحجم 118 بف و 124 بف، ولديه أوجه تشابه (متماثلة) مع بجيلوس فلكسوس (*Bacillus flexus*) بنسبة 96% ، و نبات أستراغالوس بيسولكاتوس (*Astragalus bisulcatus*) هو 100 %.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selenium merupakan elemen kimia semi logam yang terdapat di alam. Selenium di alam bebas memiliki 2 komponen penyusun yaitu komponen elemen anorganik dan organik. Menurut Johansson *et al.* (2005) elemen anorganik selenium yang berada di alam berupa selenida (Se^{2+}), selenat (SeO_4^{2-}), dan selenit (SeO_3^{2-}). Selenium dalam bentuk organik terdapat dalam tubuh makhluk hidup, seperti selenosistein dan selenometionin merupakan elemen yang disebut sebagai *trace element* (Dumont, 2005).

Selenium dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan masalah toksisitas dan pencemaran lingkungan. Menurut Budiyanto (2014) tingkat toksisitas selenium tergantung pada spesiasi jenis bilangan oksidasi dan jumlah kadarnya di lingkungan. Selenium dalam kadar konsentrasi tertentu dapat menyebabkan gangguan masalah kesehatan. Menurut Dumont (2005), selenium dapat terlarut di dalam darah. Kekurangan unsur selenium dalam tubuh, berpengaruh terhadap metabolisme kerja jantung, akan tetapi ketika jumlahnya berlebihan terakumulasi dalam tubuh dan menjadi toksik. Penyakit yang disebabkan oleh tingginya kadar selenium dalam tubuh disebut dengan Selenosis.

Penurunan kadar kualitas lingkungan diantaranya ditandai dengan adanya cemaran logam berat. Selenium merupakan senyawa semi logam yang berpotensi menjadi pencemar lingkungan. Walaupun bukan dalam golongan logam berat, namun unsur ini berpotensi mencemari lingkungan terutama di perairan dan ketika

berada dalam bentuk senyawa anorganik. Menurut Luoma & Rainbow (2008) cemaran selenium hanya bersifat lokal pada wilayah tertentu. Hal tersebut menunjukkan suatu area yang terindikasi tercemar oleh selenium hanya berasal dari satu titik sumber. Meningkatnya kasus pencemaran selenium pada lingkungan dipicu oleh meningkatnya sumber selenium dengan berbagai sebab yang berbeda.

Sumber pencemaran selenium di alam disebabkan oleh banyak hal. Menurut Triana dkk. (2010) aktivitas manusia (antropogenik) dan proses geologi adalah dua faktor utama penyebab pencemaran selenium. Cemaran selenium yang terjadi akibat aktivitas manusia antara lain kegiatan penambangan, pengolahan serta penggunaan bahan bakar fosil, dan beberapa industri di bidang lainnya. Aktivitas geologis seperti vulkanik juga menyebabkan akumulasi selenium dari dalam bumi ke permukaan, yang kemudian terurai seiring pelapukan sedimen tanah secara alami (Berrow, 1989).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi efek cemaran selenium adalah dengan melakukan remediasi untuk mengurangi pengaruh toksisitasnya pada organisme. Menurut Liu *et al.* (2015) beberapa metode remediasi yang bisa digunakan yaitu secara fisika, kimia, dan biologi (bioremediasi). Bioremediasi umum digunakan sebagai metode menurunkan toksisitas dari logam berat termasuk selenium. Bioremediasi selenium dapat dilakukan dengan perantara berbagai jenis organisme diantaranya tumbuhan, fungi, beberapa jenis mollusca dan mikroba.

Menurut Lyi *et al.* (2005) beberapa jenis tanaman mampu mengakumulasi selenium dalam jumlah konsentrasi tinggi, seperti *Astragalus bisulcatus* dan

brokoli (*Brassica oleracea*) yang dikenal sebagai hiperakumulator selenium. Beberapa jenis bakteri seperti *Pseudomonas* sp. (Macy *et al.*, 1989), *Thauera selenatis* (Macy *et al.*, 1993), *Bacillus selenatireducens* dan *Bacillus arsenicoselenatis* diketahui mampu meremediasi selenium, dengan cara mengakumulasi dan mereduksi selenat (SeO_4^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0) (Blum *et al.*, 2001; Eswayah *et al.*, 2016). Kemampuan organisme mereduksi dan mengakumulasi selenium disebabkan karena adanya sifat resisten. Sifat resisten terbentuk sebagai mekanisme pertahanan diri hasil adaptasi organisme ketika berada dalam lingkungan yang tidak menguntungkan.

Resistensi organisme terhadap unsur asing yang bersifat toksik seperti logam berat, terbentuk melalui dua mekanisme, yaitu detoksifikasi dan reduksi-oksidasi. Sors *et al.* (2009) menyatakan mekanisme detoksifikasi selenium pada spesies *Astragalus* dipengaruhi oleh aktifitas gen SMT. Gen *smt* dikarakterisasi sebagai pengkode ekspresi dari resistensi organisme terhadap unsur selenium melalui proses metilasi (Neuhierl *et al.*, 1999). Gen *smt* yang disisipkan pada bakteri *Escherichia coli* dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap selenat dan selenit (Zhu *et al.*, 2008). Hasil penelitian Ranjard *et al.* (2002) menunjukkan selenit dapat dimetilasi menjadi dimetil selenide atau dimetil diselenida. Mekanisme resistensi lainnya yaitu reduksi-oksidasi menggunakan gen-gen selenat reduktase yang menyebabkan bakteri resisten terhadap selenat (Rech & Macy, 1992).

Rangkaian mekanisme resistensi dapat mengurangi sifat toksik selenium menjadi selenium elemental maupun selenoprotein. Selenoprotein terbentuk melalui proses metilasi dengan mekanisme detoksifikasi selenit pada sitoplasma

bakteri (Gouget *et al.*, 2005). Berkaitan dengan hal ini, Allah berfirman dalam QS Al-Zumar ayat 63:

لَهُ مَقَالِيدُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۗ وَالَّذِينَ كَفَرُوا بِآيَاتِ اللَّهِ أُولَٰئِكَ هُمُ الْخَاسِرُونَ

Artinya: “Kepunyaan-Nya kunci-kunci langit dan bumi, dan orang-orang yang kafir terhadap ayat-ayat Allah, mereka adalah orang-orang yang merugi.” (QS Az-Zumar [39]: 63).

Al-Qurthubi (2012), menjelaskan ayat 63 surat Az-Zumar berisi tentang hakikat tauhid, dari sisi keesaan Al-Khaliq yang menciptakan segala sesuatu dan Maha Memiliki serta Mengelola suatu perkara. Berdasarkan dalam kitab *Tafsir fi Zhilalil-Qur’an X* makna *maqalidu* berarti kunci-kunci. Sesuai dengan Purwanto (2008) istilah *maqlidu* merupakan jamak dari kata *miqladu* yang maknanya secara tersurat adalah ‘kunci’ namun secara tersirat menyampaikan arti bahwa terdapat sesuatu yang disimpan dengan ‘kunci’ tersebut. Penjelasan dalam kitab *Tafsir fi Zhilalil-Qur’an X* oleh Al-Quthubi & As’ad (2000) memaparkan makna ‘kunci’ dapat diartikan sebagai suatu akal fikiran manusia. Demikian ayat tersebut memberikan wawasan betapa besar Kuasa Allah sehingga menuntun manusia untuk melakukan eksplorasi serta mengkaji ciptaan Allah yang ada di langit dan bumi. Peran manusia sebagai makhluk yang diciptakan dengan kesempurnaan akal dan pikiran adalah memelihara, mengelola dan menjaga apa yang telah Allah ciptakan.

Enzim selenometil transferase adalah salah satu protein enzim yang menjadi kunci dalam mekanisme resistensi organisme pada unsur selenium. Enzim ini adalah sebuah protein fungsional yang disandi oleh gen *smt* (Ellis *et al.*, 2004). Neuhierl *et al.* (1999) menyebutkan gen *smt* berperan mengkatalisis proses

transfer gugus metil S-adenosi-methionin untuk memetilasi selenosistein membentuk selenometil selenosistein (Se-MSC). Isolasi gen *smt* umumnya dilakukan dari tanaman hiperakumulator selenium seperti *A. bisulcatus*, *Brassica oleracea*, dan *Camelia sinensis* dengan tujuan meningkatkan resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap selenium (Kocsis *et al.*, 2003; LeDuc *et al.*, 2004; Lyi *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2008; Sors *et al.*, 2009; Cakur *et al.*, 2013).

Selain pada tanaman, resistensi selenium pada bakteri juga dipengaruhi oleh ekspresi gen *smt*. Gen *smt* yang dikarakterisasi sebagai protein YagD dari bakteri *Escherichia coli* diketahui meningkatkan metilasi terhadap selenium (Neuhierl *et al.* (1999). Ranjard *et al.* (2002) menyebutkan gen *smt* pada *Pseudomonas syringae* membantu proses volatilisasi selenium menjadi dimetil selenide. Gen untuk metilasi selenium digunakan dalam metabolisme methanobacteria untuk sintesis selenosistein (Rother *et al.*, 2010). Gen *smt* berperan dalam resistensi tanaman dan bakteri *Rhodopseudomonas palutris* terhadap selenium (Rosen *et al.*, 2006; Struck *et al.*, 2012). Metilasi selenium oleh gen *smt* dipengaruhi oleh *thiopurin-methyl transferase* (Urbancic *et al.*, 2019).

Menurut Triana dkk. (2010) gen *smt* terdapat pada isolat bakteri *Geobacillus* sp. yang diketahui resisten terhadap selenida. Umumnya, bakteri jenis ini dapat ditemukan pada sumber air panas dan tanah gunung berapi yang menjadi pusat aktivitas geologis (Triana dkk., 2010). Selain bersumber pada lingkungan geologis, bakteri pengakumulasi selenium juga terdapat pada daerah pesisir pantai. Penelitian yang dilakukan oleh Amalia (2017) telah berhasil mengisolasi bakteri yang resisten dan mampu mengakumulasi selenat hingga konsentrasi 10

mM dari sedimen tanah pesisir Pantai Utara Campur Rejo di Kabupaten Gresik, yang diketahui mengandung selenium total 400-700 µg/L. Menurut hasil penelitian Safura (2017) selenium juga termasuk metaloid yang mencemari sedimen pada Pantai Selatan Sendang Biru Kabupaten Malang. Nilai total cemaran Se di pantai ini mencapai 990-1.180 µg/L, dan terdapat bakteri endofit yang resisten terhadap Selenat (SeO_4^{2-}) hingga konsentrasi 10 mM. Nilai kadar selenium dari kedua wilayah tersebut tergolong sangat tinggi apabila dibandingkan dengan batas maksimal yang ditetapkan EPA (*Environmental Protection Agency*) yaitu 3.1 µg/L pada wilayah perairan lotik dan 1.5 µg/L di wilayah perairan lentik (EPA, 2016).

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dengan memanfaatkan bakteri resisten selenium yang diisolasi dari pantai Sendang Biru Kabupaten Malang oleh Safura (2017) dan di pantai Campur Rejo Gresik oleh Amalia (2017). Fokus tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi keberadaan gen *smt* pada isolat bakteri yang diinduksi dengan sodium selenit sehingga diketahui penyebab resistensi bakteri. Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, penelitian ini penting untuk dilakukan agar diketahui keberadaan gen *smt* pada bakteri dan mekanisme resistensi bakteri berkaitan dengan keberadaan gen *smt*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang memiliki gen *smt* sebagai penyandi sifat resisten terhadap selenium?

2. Bagaimana homologi gen *smt* pada isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang?

1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang yang memiliki gen *smt* sebagai penyandi sifat resisten terhadap selenium.
2. Untuk mengetahui homologi gen *smt* pada isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang memiliki gen *smt* sebagai penyandi sifat resisten terhadap selenium.
2. Gen *smt* pada isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang homolog dengan gen atau protein spesifik penyandi sifat resisten bakteri terhadap selenium.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi mengenai isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang yang memiliki gen *smt* sebagai penyandi sifat resisten terhadap selenium.

2. Memberi informasi tentang homologi gen *smt* isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang dengan gen atau protein spesifik penyandi sifat resisten bakteri terhadap selenium.
3. Memberi inspirasi agar dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi gen *smt* sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang bioremediasi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini meliputi:

1. Isolat bakteri yang digunakan adalah IRS-1 dan IRS-2 berasal dari hasil uji resistensi bakteri terhadap selenit dan selenat dengan konsentrasi 10 mM pada penelitian Safura (2017) dan Amalia (2017).
2. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung sodium selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) 10 mM.
3. Primer yang digunakan dalam penelitian yaitu *forward primer* (5'-CAAGCCACCATTCAAGGTTT-3') dan *reverse primer* (5'-CCCTACTGATCCCGCAATTA-3') (Triana dkk., 2010).
4. Metode analisis gen *smt* dilakukan secara kualitatif dengan melihat pita DNA hasil elektroforesis dan secara kuantitatif dengan nilai homologi gen *smt* dilakukan dengan aplikasi webserver NCBI-BLAST.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selenium

Selenium (Se) adalah salah satu unsur kimiawi yang berada di alam. Selenium menempati urutan nomor atom ke 34 dengan total massa atom 78,96 g/mol. Unsur selenium terletak diantara unsur sulfur dan tellurium dalam golongan VIA, sedangkan dalam periode 4 selenium diapit oleh unsur penting yaitu arsenik dan brom (Budiyanto, 2014; Dumont, 2006). Selenium merupakan unsur yang bersifat nonlogam namun masih tergolong sebagai metaloid karena memiliki sifat antara logam dan non logam (Nuttal, 2006; Dietz *et al.*, 2000).

Selenium dalam bentuk padatan semilogam bersifat paling stabil di alam, warnanya abu-abu keunguan dengan struktur kimia berupa polimer trigonal (Budiyanto, 2014). Selain itu, alotropi unsur selenium dapat muncul dengan warna merah, hitam dan abu-abu. Selenium memiliki nilai konfigurasi elektron yaitu (Ar) $3d^{10}, 4s^2, 4p^4$. Sifat fisik selenium, selain warna yaitu memiliki struktur solid pada suhu 20°C dengan massa jenis 4,79 g/cm³ dan termasuk unsur yang dapat membentuk senyawa asam kuat seperti hidrogen selenida (H₂S) (Ghebreeyesus & Feleke, 2019). Selenium dikenal sejak lama sebagai bahan konduktor yang sempurna dalam cahaya dibandingkan dalam gelap serta mampu mengkonversi cahaya langsung menjadi listrik (fotovoltaik) (Gordon, 1975; Da Silva & William, 2001). Menurut Budiyanto (2014) dengan karakter fotovoltaik tersebut, unsur selenium umum dimanfaatkan dalam industri kaca dan pigmen serta elemen dasar panel surya.

Selenium sebagai unsur yang menempati golongan VIA, sering disebut sebagai kelompok kalkogen (*chalcogens*). Seperti sifat golongan kalkogen lainnya, selenium mampu membentuk biji dan dapat membentuk hidrogen sulfida (H_2S). Hidrogen sulfida (H_2S) memiliki sifat *odiferous* kuat, beracun dan memiliki bentuk gas yang tidak berwarna (*colorless*). Tingkat keasaman hidrogen selenida lebih tinggi dari hidrogen sulfida (H_2S) dan dalam sebuah larutan, dapat terionisasi menjadi HSe^- (Devi *et al.*, 2017).

Selenium di alam memiliki beberapa bentuk secara umum, berupa senyawa organik dan senyawa anorganik (Budiyanto, 2014). Selenium anorganik memiliki 4 bentuk bilangan oksidasi utama, antara lain selenium elemental (Se^0) yang memiliki bilangan oksidasi 0, sodium selenida (Na_2Se) dan hidrogen selenida (H_2Se) dengan bilangan oksidasi 2-; sodium selenit (Na_2SeO_3), selenium dioksida (SeO_2), asam selenit (H_2SeO_3) dengan bilangan oksidasi 4+; dan sodium selenat (Na_2SeO_4) dan asam selenat (H_2SeO_4) yang memiliki bilangan oksidasi 6+ (Dumont, 2006). Meskipun selenium dikenal sebagai salah satu *trace element* yang tidak toksik, tetapi bentuk selenium teroksidasi menjadi sangat toksik. Selenium yang teroksidasi hingga 6+ diketahui sebagai senyawa lebih beracun (Gebreyesus & Feleke, 2019).

Unsur organik selenium umumnya ditemukan dalam bentuk selenoprotein, berupa L-selenomethionin (metionin yang gugus sulfurnya digantikan oleh selenium) dan Se-metil-L-selenosistein (sistein yang gugus sulfurnya digantikan oleh selenium) (Anguilar *et al.*, 2009). Nuttal (2006) menyatakan beberapa bentuk selenium organik yang terdapat di alam diantaranya selenosistein ($\text{R-CH}_2\text{-Se-H}$),

selenosistin (R-CH₂-Se-S-CH₂-R), diselenosistin (R-CH₂-Se-Se-CH₂-R), selenometionin (R-CH₂-CH₂-Se-CH₃) dan selenodiglutation (G-S-Se-S-G). Selenium juga dapat bersifat sebagai unsur pengganti (*substituent*) unsur sulfur dalam berbagai jenis senyawa organik (Barceloux, 1999).

2.1.1 Toksisitas dan Pencemaran Selenium

Selenium disebut sebagai satu dari 18 jenis *trace element* yang penting dalam metabolisme tubuh, dengan konsentrasi tidak lebih dari 1 µg/kg dari berat tubuh harian. Selenium yang digunakan sebagai *trace element* tidak menjadi toksik dan berbahaya (Dumont, 2006), tetapi menurut Mertz (1981) setiap *trace element* dapat berpotensi menjadi toksik ketika jumlahnya tinggi dan konsentrasinya melebihi batas. Nilai optimal asupan mineral tertentu, termasuk selenium berbeda bergantung pada beberapa parameter diantaranya adalah umur, jenis kelamin, berat badan, status fisiologi, kondisi kesehatan dan lain-lain.

Grützmaier (2013) menyebutkan pencemaran selenium pada lingkungan berdampak pada keracunan organisme. Keracunan atau toksisitas selenium umumnya terjadi ketika ion-ion selenium tertentu di dalam tanah terserap bersama air dan terakumulasi di beberapa organ hewan atau tumbuhan. Tanaman merupakan sumber utama unsur selenium dalam makanan, tetapi unsur selenium yang berasal dari aktivitas geologis masih menjadi faktor utama kasus keracunan selenium dalam di perairan (Gupta & Gupta, 2017).

Asupan selenium berpengaruh pada metabolisme makhluk hidup. Kekurangan dan kelebihan selenium pada tubuh manusia berdampak negatif pada kesehatan. Menurut Broadley *et al.* (2007) kekurangan asupan selenium dapat menyebabkan stress oksidatif pada keadaan tertentu, penurunan kualitas

kesuburan, gangguan fungsi kekebalan tubuh, dan meningkatkan resiko kanker. Meskipun selenium merupakan salah satu dari mineral dasar makhluk hidup, namun hanya digunakan dalam jumlah yang sangat sedikit oleh tubuh. Toksisitas akut selenium pada hewan ternak (sapi dan domba) menyebabkan gejala kesulitan bernafas, gerakan abnormal, diare hingga kematian beberapa jam setelah waktu konsumsi tanaman pengakumulasi selenium (Council, 1983; Desta *et al.*, 2011). Toksisitas selenium pada unggas pemakan biji-bijian dapat menyebabkan selenosis kronis, ditandai dengan sirosis hati, ketimpangan (gangguan keseimbangan tubuh), cacat di bagian kuku, kerontokan rambut serta gejala emasi (Olson, 1986).

Selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) merupakan jenis selenium dengan bilangan oksidasi yang paling berbahaya dan sangat beracun bagi manusia. Pengaruh kronis paparan selenium pada tubuh manusia selain menimbulkan gejala toksisitas berupa selenosis juga memicu neurotoksisitas, sedangkan paparan kronisnya menyebabkan gangguan pada fungsi endokrin terutama pada sintesis hormon tiroid (Vincent *et al.*, 2014). Gejala dari paparan selenium dalam jangka panjang menyebabkan kerusakan dermatologis berupa kerusakan kuku dan rambut (Vinceti *et al.*, 2001).

Budiyanto (2014) menyatakan penelitian tentang toksisitas selenium di Indonesia tidak banyak berkembang dan sangat terbatas. Hal tersebut berlawanan dengan fakta masih ditemukan daerah yang mengandung senyawa selenium dalam jumlah melebihi batas. Selain itu, selenium juga dapat terakumulasi dan mengancam kesehatan. Irianti (2017) menyebutkan Kepmenkes RI No.416/1990

telah mengatur pengawasan dan penggunaan air minum Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan (SBMKL) jumlah selenium yang diizinkan tidak lebih besar dari 0.01 mg/L atau setara dengan 10 µg/L. Standar yang ditetapkan untuk selenium dalam lingkungan serta penanganannya berbeda di setiap Negara. Menurut Luoma & Rainbow (2008) di Uni Eropa, selenium tidak terdaftar dalam *European Commission's Dangerous Substance Directive* maupun *List of Water Quality Standards for Protection of Aquatic Life*. Negara Kanada memberikan aturan berbeda untuk selenium, dengan menetapkan standar tidak lebih dari 1 µg/L dalam Petunjuk Kualitas Air-nya.

Kasus pencemaran selenium pernah terjadi di danau Stewart Taman Nasional Kesterson Amerika pada tahun 1983. Cemaran selenium di wilayah tersebut menyebabkan lebih dari 60% populasi bebek mengalami cacat fisik (Stephen *et al.*, 1988). Jumlah total endapan selenium di bagian pusat danau Stewart pada tahun 1991 mencapai 720 µg/g berat kering sedimen, sedangkan pada wilayah dekat dengan aliran air konsentrasi selenium berkurang hingga 4-7 µg/g (Stephen & Waddel, 1998). Observasi yang dilakukan Rowland *et al.* (2002) menyebutkan dalam rentang waktu tahun 1995-2000 jumlah akumulasi selenium pada ikan Mas yang hidup di danau Stewart mencapai 19,8 µg/g. Selain itu, kasus pencemaran selenium juga dilaporkan terjadi di danau Macquarie pada tahun 1997 (Nobbs *et al.*, 1997).

Allah berfirman dalam Surat Ar-Ruum ayat 41:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya: "Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian

dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar).” (Q.S. Ar Rum: 41).

Berdasarkan dalam kitab Tafsir fi Zhilalil Qur’an, ayat 41 Surat Ar-Rum menyampaikan tentang kerusakan yang dibuat oleh manusia di bumi. Secara tersurat, kerusakan yang dimaksud berada di laut dan di bumi, sedang secara tersirat juga menjelaskan kerusakan hati, akidah, dan amal (perbuatan) manusia. Keserakahan dan kesombongan manusia dalam mengeksploitasi alam secara berlebihan menunjukkan realita tafsir ayat ini dalam kehidupan. Kemudian Allah SWT menjadikan bersama dengan kerusakan balasan kepedihan akibat perbuatan mereka, sehingga mereka sadar dan kembali ke jalan Allah SWT. Kerusakan tersebut berupa kasus pencemaran lingkungan, salah satunya pernah terjadi di danau Stewart Taman Nasional Keterson Benua Amerika.

2.1.2 Sumber-Sumber Selenium

Selenium (Se) sebagai bagian dari golongan kalkogen (VIA) memiliki sifat umum seperti unsur Sulfur (S) dan Tellurium (Te) (Staicu & Barton, 2017). Selenium tidak seperti sulfur yang persebarannya cukup berlimpah di lapisan kerak bumi, menurut Kabata (2002) unsur selenium di alam hanya mencapai jumlah nano hingga mikromolar dan bersifat lokal. Secara alami, unsur selenium berasosiasi dengan mineral-mineral logam sulfida (seperti pirit dan kalkopirit) dan juga pada batuan sedimen biologis (biolit) seperti pada batubara, minyak serta serpih bitumen. Selain itu, selenium juga terdapat pada jenis tanah seleniferous (Winkel *et al.*, 2011).

Asal sumber selenium yang tersebar di bumi dibedakan menjadi 2, yaitu muncul secara alami dan secara antropogenik (karena peran manusia). Jalur persebaran selenium secara alami terjadi melalui aktivitas vulkanik, pelapukan batuan sedimen (baik karena aktivitas biologis, kimiawi, dan fisik, termasuk pada gempuran karang oleh air laut), proses volatilisasi, dan proses biogeokimia dengan bantuan makhluk hidup. Aktivitas antropogenik yang menyumbang jumlah selenium di alam antara lain adalah bidang industri seperti proses pembuatan kaca dan karet, komponen listrik, penyepuhan logam, dan pemakaian bahan bakar fosil. Selain di bidang industri, selenium juga dapat terakumulasi karena pengaruh aktivitas pertanian seperti pada penggunaan pestisida, pupuk, dan campuran fosfat (Eswayah, 2018; Triana dkk., 2010; Gebreyessus & Feleke, 2019; Haygart, 1994).

Dumont (2006) menyebutkan sumber selenium terdapat di tanah dan di perairan. Kandungan selenium di tanah biasa umumnya hanya mencapai 0,02-2,5 $\mu\text{g/g}$, pada lapisan kerak bumi berada dalam kisaran 0,09 $\mu\text{g/g}$, pada batu bara 0,47-8,1 $\mu\text{g/g}$ sedangkan dalam bahan bakar minyak jumlahnya adalah 2,4-7,5 $\mu\text{g/g}$ (Shamberger, 1981). Konsentrasi selenium di tanah berbeda dan bervariasi, mulai dari 5 hingga 1.200.000 ug/kg . Daerah yang berada di sekitar gunung vulkanik dapat mengandung konsentrasi selenium lebih tinggi, dimulai dari 50-90 ug/kg dan bisa lebih tinggi lagi (Gebreyessus & Feleke, 2019).

Selenium yang berada dalam lapisan tanah memiliki bentuk kelarutan yang berbeda-beda. Perbedaan bentuk tersebut didasarkan pada keadaan fase oksidasinya (-II, 0, +IV, +VI). Bentuk-bentuk fase oksidasi tersebut dapat

mempengaruhi sifat kelarutan, bioavailabilitas, serta mobilitas selenium dalam tanah. Proses mobilisasi sangat penting karena berkaitan dengan proses asimilasi dan disimilasi selenium dalam tanah, dan proses tersebut dipengaruhi oleh pH lingkungan. Salah satu mekanisme mobilisasi selenium adalah, ketika dalam lingkungan dengan pH basa selenium elemental (Se^0) teroksidasi menjadi selenat (SeO_4^{2-}) sedangkan pada kondisi asam terkonversi menjadi selenit (SeO_3^{2-}) (Lakin, 1973).

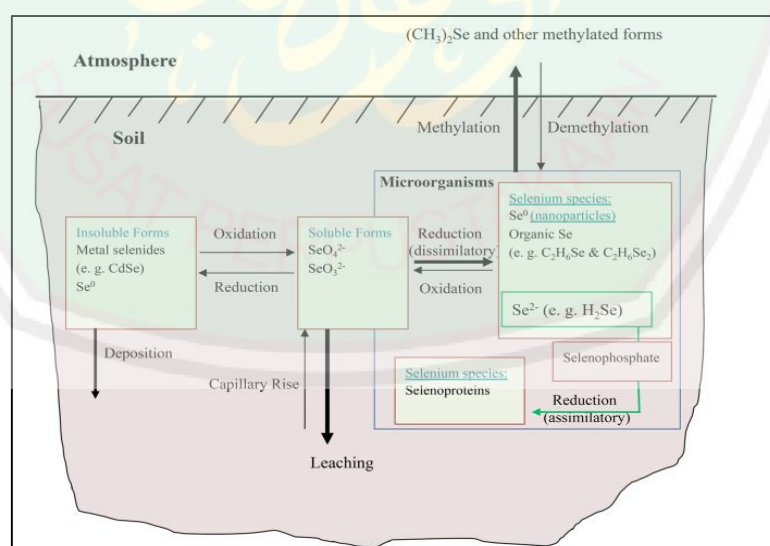
Persebaran selenium juga terdapat di berbagai perairan seperti sungai, danau, dan laut. Hamilton (2004) menyatakan munculnya berbagai jenis selenium dalam perairan disebabkan oleh kegiatan industri, penambangan batubara dan pertanian. Menurut WHO (1971) tanpa peran faktor-faktor antropogenik tersebut, sebenarnya konsentrasi selenium di alam umumnya sangat rendah bahkan tidak lebih dari kisaran ng- $\mu\text{g/L}$. Penyebaran kontaminasi selenium umumnya bersifat lokal, karena selenium tidak dapat terdistribusi dalam atmosfer seperti yang terjadi pada logam jenis merkuri (Hg). Akan tetapi, hal tersebut menyebabkan selenium mencemari satu wilayah tertentu dan meningkatkan toksisitasnya dari secara berkala. Dengan demikian, konsentrasi selenium yang mencemari suatu wilayah dan terus bertambah (Luoma & Rainbow, 2008).

Jenis selenium yang terdapat di perairan, umumnya adalah selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}). Keduanya muncul sebagai hasil dari proses biogeokimia melalui penyebaran (mobilitas) dan ketersediaan (bioavailabilitas) di alam (Pyrzyńska, 2002). Hasil observasi Etim (2017) di Nigeria menunjukkan konsentrasi selenium pada sampel air tanah mencapai 7,33-46,3 $\mu\text{g/L}$. Jumlah

tersebut tidak jauh berbeda dengan beberapa wilayah yang terpengaruh faktor geogenik. Berbeda dengan beberapa negara bagian di Amerika, Morrison *et al.* (2012) menyatakan pada air yang diketahui mengandung garam (*saline area*) terdapat kandungan selenium dengan konsentrasi hingga mencapai 1000 $\mu\text{g/L}$. Wilayah tersebut antara lain berada di Colorado, New Mexico, dan Utah.

2.1.3 Siklus Biogeokimia Selenium

Siklus biogeokimia selenium dipengaruhi oleh jenis selenium yang terdapat di lingkungan dan siklus tersebut menyebabkan perubahan bentuk selenium (transformasi). Jenis selenium secara umum terbagi dalam 2 jenis yaitu selenium organik dan anorganik. Transformasi selenium melalui siklus biogeokimia dapat merubah selenium anorganik menjadi organik. Siklus biogeokimia selenium dapat terjadi melalui reduksi, oksidasi, metilasi/de-metilasi, volatilisasi, akumulasi, asimilatori dan dissimilatori (Eswayah *et al.*, 2016).

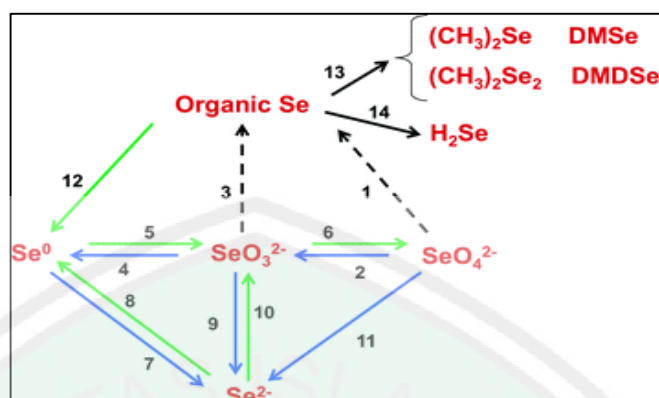


Gambar 2.1 Siklus biogeokimia berbagai jenis selenium dalam tanah melalui reduksi, oksidasi, metilasi, demetilasi, asimilasi dan demetilasi, serta peran mikroorganisme (Flury *et al.*, 1997).

Siklus biogeokimia selenium dapat terjadi pada tanah maupun perairan. Mekanisme transformasi yang terjadi umumnya tidak jauh berbeda, hanya organisme yang menjadi perantaranya berbeda. Menurut Eswayah *et al.* (2016) reaksi yang terlibat pada siklus selenium di tanah dapat dipengaruhi juga oleh mikroba. Gambar 2.1 menunjukkan mekanisme transformasi selenium pada tanah melalui 4 proses yaitu reduksi, oksidasi, metilasi, dan de-metilasi. Proses reduksi dan oksidasi menyebabkan transformasi pada selenium anorganik, sedangkan proses metilasi bekerja merubah struktur selenium anorganik menjadi organik.

Menurut Doran (1982) pada gambar 2.1 komponen selenium yang berada di tanah lebih dominan sebagai bentuk logam selenides, selenium elemental, selenit, selenat, dan selenium organik. Selenium elemental dan logam selenida secara esensial tidak terlarut dan tidak tersedia sebagai bahan serapan makhluk hidup (agen biologis). Jenis selenium ini, dapat ditransformasi menjadi selenium esensial yang terlarut (seperti SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) melalui oksidasi.

Selenat (SeO_4^{2-}) memiliki sifat lebih mudah terlarut dan diekstrak dari pada selenit (SeO_3^{2-}) (Ylaranta, 1982; Elrashidi *et al.*, 1989). Doran (1982) menyatakan, unsur selenium dalam bentuk terlarut merupakan subjek utama yang dapat ditransformasikan ke dalam bentuk yang lain oleh mikroba. Transformasi yang terjadi termasuk perubahan selenat (SeO_4^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0), selenida (Se^{2-}), dan melalui metilasi-volatilisasi (Gambar 2.2. 14, 15) untuk membentuk senyawa gas seperti dimetil selenida [DMSe atau $(\text{CH}_3)_2\text{Se}$], dimetil diselenida [DMDSe atau $(\text{CH}_3)_2\text{Se}_2$] dan dimetil selenil-sulfida [$\text{CH}_3\text{SeSCH}_3$] (Chasteen, 1993).



Gambar 2.2 Ringkasan proses biogeokimia selenium di alam. Panah hijau arah menunjukkan oksidasi (5,6,8,10,12), panah biru menunjukkan reduksi (2,4,7,9,11), garis panah putus-putus menunjukkan metilasi (1,3), panah hitam menunjukkan volatilisasi (13,14) (Shrift, 1964).

Berkaitan dengan siklus biogeokimia selenium di alam, Allah SWT berfirman dalam Surat Al-Mulk ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِنْ تَفَافُوتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَى مِنْ فُطُورٍ

Artinya: “Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang.”

Makna tersirat terdapat kata “tidak seimbang” yang menunjukkan terdapat hal yang tidak sesuai dengan bentuk, jumlah, maupun wujudnya. Ketidakseimbangan tersebut nampak secara jelas dan mencerminkan terdapat banyak hal berbeda yang Allah ciptakan di antara langit dan di bumi. Namun demikian, dari perbedaan tersebut Allah menjadikannya sebuah saling melengkapi sehingga menciptakan satu keseimbangan dalam hal bentuk dan fungsinya. Demikian ciptaan Allah SWT adalah yang paling sempurna meski terdapat kesan tidak serupa.

Menurut Shihab (2002) dalam al-Qur'an Surat al-Mulk ayat 3, yang intinya menjelaskan Allah yang menciptakan langit bahkan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang yang menunjukkan sifat pemurah Allah kepada makhluknya. Konteks ketidakseimbangan yang menjadi dasar dalam penelitian ini kelebihan jumlah selenium di alam yang melebihi standar dapat menyebabkan masalah seperti toksisitas pada makhluk hidup. Namun demikian, hal tersebut oleh Allah dibuat seimbang dengan Allah menciptakan bakteri, tanaman, serta organisme lainnya yang mampu menurunkan jumlah selenium tersebut sehingga secara tidak langsung jumlahnya menjadi kembali seimbang.

2.2 Bioremediasi Selenium

Bioremediasi merupakan teknik yang digunakan untuk menetralkan lingkungan (air dan tanah) dari zat-zat yang berbahaya untuk makhluk hidup dengan menggunakan agen-agen biologis sebagai mediatornya (Waluyo, 2009). Priade (2012) menyatakan bioremediasi umumnya menggunakan mikroorganisme sebagai alat untuk menurunkan polutan atau cemaran tertentu. Tujuan dari penggunaan agen-agen hayati adalah agar struktur polutan yang bersifat toksik dapat diurai dengan menggunakan enzim-enzim yang disintesis oleh mikroorganisme yang berkaitan.

Menurut Yajid (2007) beberapa agen biologis yang bisa digunakan dalam bioremediasi adalah tanaman, mikroorganisme, dan beberapa jenis moluska di perairan sungai. Bioremediasi bermanfaat untuk menanggulangi dampak pencemaran logam berat dan limbah tertentu yang mencemari lingkungan. Penggunaan bioremediasi sebagai alat perbaikan lingkungan memiliki banyak

nilai ekonomis jika dibandingkan dengan remediasi menggunakan zat kimiawi atau teknik mekanika (proses fisika). Keunggulan bioremediasi lebih beragam dengan metodenya jauh lebih kompleks menyerap logam dan polutan melalui absorpsi, adsorpsi, detoksifikasi, transformasi, dan volatilisasi.

Bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme lebih umum dilakukan pada beberapa jenis logam seperti timbal (Pb), tembaga (Cu) dan merkuri (Hg), sedangkan untuk logam selenium lebih banyak diperantarai oleh tanaman-tanaman hiperakumulator seperti pada tanaman *Astragalus bisulcatus* (Neuhierl *et al.*, 1999), *Arabidopsis thaliana*, *Brassica oleracea* (Lyi *et al.*, 2005) dan *Camelia sinensis* (Zhu *et al.*, 2002). Perbedaan bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme (bakteri) dan tanaman terletak pada mekanisme detoksifikasinya. Menurut Staicu & Barton (2017) mekanisme detoksifikasi selenium pada tanaman menggunakan mekanisme asimilatoris sedangkan pada bakteri menggunakan mekanisme dissimilatori.

Firman Allah SWT dalam Surat Al Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: “Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat: “Sesungguhnya Aku hendak menjadikan khalifah di muka bumi.” Mereka berkata: “Apakah Engkau hendak menjadikan di bumi itu siapa yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?” Allah berfirman: “Sesungguhnya Aku me-ngetahui apa yang tidak Engkau ketahui.”

Menurut Imam Jalaluddin Al-Mahalli dan Imam Jalaluddin As-Suyuthi (2000) dalam kitab tafsir Jalalain, Q.S Al Baqarah ayat 30 berisi kehendak Allah SWT yang menjadikan Nabi Adam (dan keturunannya, manusia) sebagai khalifah di

bumi. Kata “khalifah” dalam kitab menjelaskan makna sebagai orang-orang yang mewakili Allah dalam melaksanakan hukum-hukum serta peraturan Allah. Ayat tersebut secara tersirat menyampaikan bahwa Allah memberikan amanah yang besar kepada manusia agar mengelola bumi dengan baik, tidak dzalim dan berbuat kerusakan. Allah menjelaskan tentang manusia yang diberi akal dan pikiran sehingga dengan itu mereka mampu mengatur, menundukkan, dan memanfaatkan benda-benda (baik yang bernyawa ataupun tidak) yang ada di muka bumi. Melalui akal dan pikiran mereka (manusia) yang kemudian berkembang menjadi sebuah ilmu pengetahuan, sehingga mereka paham firman Allah yang disampaikan secara kauniyah melalui benda-benda yang ada di alam dan fenomenanya.

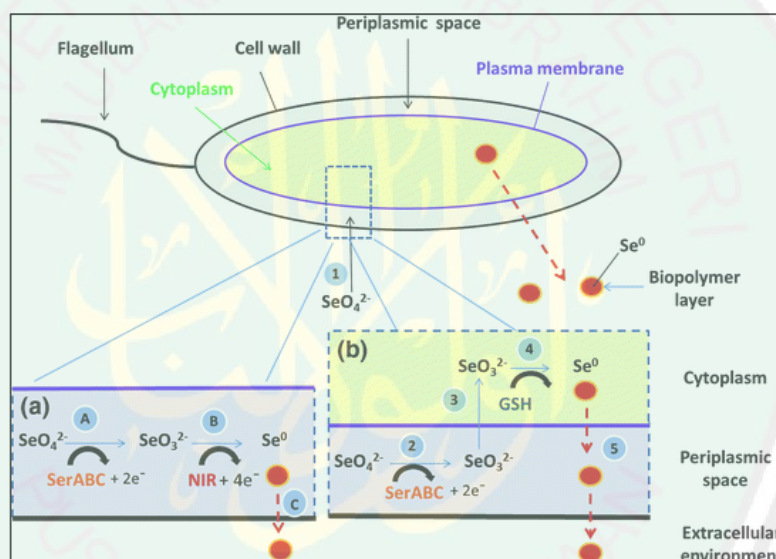
2.3 Mekanisme Resistensi dan Akumulasi Selenium pada Bakteri

2.3.1 Reduksi Selenat (SeO_4^{2-}) dan Selenit (SeO_3^{2-}) serta Akumulasi Selenium pada Bakteri

Staicu & Barton (2017) menjelaskan dasar dari jalur metabolisme reaksi reduksi selenium dapat merefleksikan aktivitas bakteri dengan komponen anorganik (senyawa kimia) lain, dan umumnya jalur metabolisme bakteri dalam mereduksi sulfur (S) sering dikaitkan dengan selenium. Reaksi reduksi selenium oleh bakteri digolongkan sebagai reaksi dissimilasi (penguraian). Mekanisme dalam reaksi ini ditunjukkan dalam gambar 2.3, selenat (SeO_4^{2-}) diurai menjadi selenium elemental (Se^0) dengan unsur selenium berguna sebagai penerima elektron dan bakteri berperan sebagai pendonor elektron.

Reaksi reduksi secara umum yang terjadi pada bakteri adalah reduksi selenat (SeO_4^{2-}) menjadi selenit kemudian selenit (SeO_3^{2-}) kembali direduksi

menjadi selenium elemental (Se^0) atau ion hidrogen selenida (HSe). Bakteri *Thauera selenatis* merupakan kelompok proteobakteria tipe β yang sejauh ini digunakan sebagai dasar pembelajaran respirasi bakteri dengan menggunakan selenat (SeO_4^{2-}) (Macy *et al.*, 1993; Schroder *et al.*, 1997; Krafft *et al.*, 2000; Maher *et al.*, 2004). Staicu & Barton (2017) menyebutkan *T. selenatis* merupakan bakteri pertama yang berhasil diidentifikasi dan dikarakterisasi berkaitan dengan kemampuannya dalam merespirasi selenat (SeO_4^{2-}).



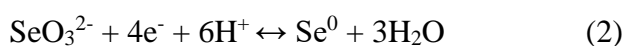
Gambar 2.3 Transformasi resistensi bakteri *Thauera selenatis* terhadap selenium. (a) Proses reduksi dalam membran periplasma, (A) reduksi SeO_4^{2-} menjadi SeO_3^{2-} dengan SerABC sebagai katalisator (B), reduksi SeO_3^{2-} menjadi Se^0 dengan donor 4 elektron dan dikatalisis *nitrite reductase* (C), Se^0 keluar dari sel dibungkus oleh lapisan biopolimer. (b) Proses reduksi dalam sitoplasma (1) SeO_4^{2-} masuk ke dalam membrane periplasma, (2) reduksi SeO_4^{2-} menjadi SeO_3^{2-} (3) SeO_3^{2-} masuk ke dalam sitoplasma (4) reduksi SeO_3^{2-} oleh GSH menjadi Se^0 (5) Se^0 diekspor keluar sel dalam kantung biopolimer (Macy *et al.*, 1993; Debieux *et al.*, 2011).

Reaksi reduksi selenat (SeO_4^{2-}) membentuk selenit (SeO_3^{2-}) oleh bakteri *T. selenatis*, berada pada bagian membran periplasmik (Gambar 2.3 (a)). Reaksi

reduksi selenat (SeO_4^{2-}) melibatkan 2 donor elektron (e^-) dan 2 ion H^+ yang menghasilkan selenit (SeO_3^{2-}) dan 1 molekul air (H_2O) (1). Berdasarkan gambar 2.3 (A) terdapat SerABC yang merupakan sebuah enzim hasil sekresi dari membran periplasma bakteri yaitu *selenite reductase* yang berperan membantu menyediakan donor elektron (e^-). SerABC merupakan sebuah *molybdoenzyme* tipe II yang terdiri dari sub unit SerA (96 kDa), SerB (40 kDa), dan SerC (23 kDa). SerABC berperan mengatur metabolisme *heme* (tipe-b), sejumlah unsur besi (Fe), sulfur (S), dan molybdenum (Mo) yang masuk dalam sel (Dridge *et al.*, 2007).

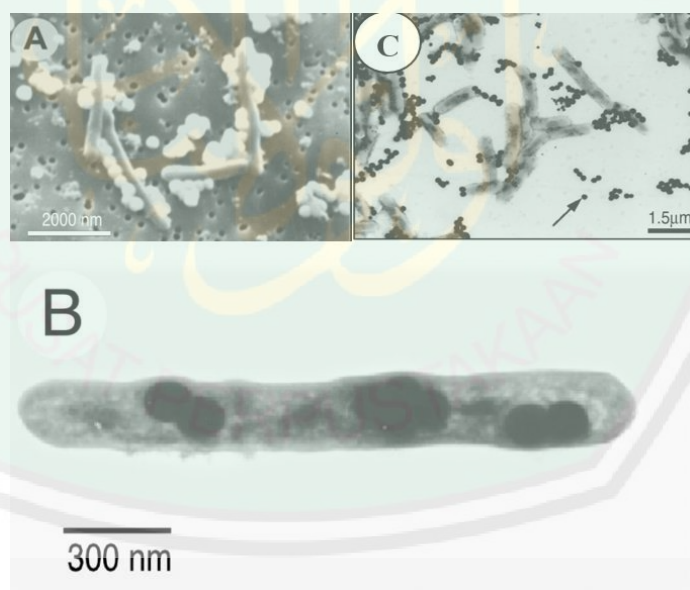


Selenit (SeO_3^{2-}) dihasilkan sebagai produk respirasi-reduksi bakteri dengan menggunakan substrat selenit (SeO_3^{2-}). Debieux *et al.* (2011) menyatakan pada *T. selenatis*, selenit (SeO_3^{2-}) menggunakan reduksi untuk merubah bentuknya menjadi selenium elemental (Se^0). Reaksi itu tidak mendukung pertumbuhan bakteri dan bukan termasuk reaksi respirasi bakteri. Masih banyak perdebatan diantara pakar mengenai bagaimana mekanisme selenit direduksi menjadi selenium elemental (Se^0) dalam sel bakteri. Salah satu mekanisme reduksi selenit (SeO_3^{2-}) terjadi dengan adanya donor 4 elektron (e^-) dan 6 ion hydrogen (H^+), yang bereaksi dengan selenit (SeO_3^{2-}) dan membentuk 3 molekul air (H_2O) (2). Mekanisme lainnya menurut Ganther (1968) adalah penggunaan senyawa thiol dalam sitoplasma.



Akumulasi selenium dalam siklus dissimilatori terjadi bersamaan dengan pembentukan selenium elemental (Se^0) menjadi nanopartikel yang kemudian

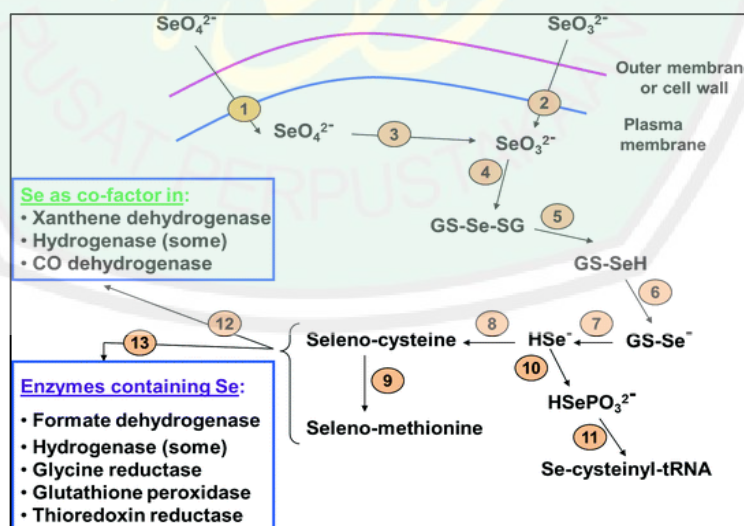
termineralisasi dalam sel bakteri. Kessi *et al.* (1999) menyatakan terdapat 2 tahap bakteri dalam proses ekstruksi partikel Se^0 dalam sitoplasma selama fase stasioner bakteri. Tahapan pertama yaitu nukleasi dan pembentukan partikel Se^0 di dalam sel, dan tahap kedua adalah ekstruksi partikel Se^0 keluar dari sel ketika bakteri berada dalam fase pertumbuhan tertentu ditunjukkan dalam gambar 2.4. Oremland *et al.* (2004) menyebutkan akumulasi nanopartikel granular Se^0 dapat terjadi secara intra dan ekstraseluler. Gambar 2.4 (A-C) menunjukkan hasil observasi akumulasi nanopartikel secara ekstraseluler dengan ukuran rata-rata 200 – 400 nm. Beberapa organisme yang mampu memproduksi nanopartikel dari hasil reduksi selenat (SeO_4^{2-}) antara lain adalah *Sulfurospirillum barnesii*, *B. selenitireducens*, dan *Selenihalanaerobacter shriftii*.



Gambar 2.4 Akumulasi partikel Se^0 yang dibentuk oleh *B. selenitireducens* yang ditumbuhkan dalam selenit (SeO_3^{2-}), (A) hasil SEM (B) hasil TEM, (C) hasil TEM, akumulasi Se^0 pada *single* bakteri yang ditumbuhkan dalam nitrit, skala 300 nm (Oremland *et al.*, 2004).

2.3.2 Mekanisme Resistensi Bakteri Berdasarkan Reaksi Metilasi dan Volatilisasi

Reduksi selenium selain dengan mekanisme dissimilatori, juga dapat terjadi secara assimilatori. Reduksi secara assimilatori pada sulfat (SO_4^{2-}) dan nitrat (NO_3^-) menjadi refleksi reduksi assimilatori pada selenat (SeO_4^{2-}) untuk sintesis asam amino. Mekanisme dalam reduksi ini ditunjukkan pada gambar 2.5 (8-9) yang menjelaskan adanya reaksi enzim O-asetilserin thiol liase dan sintesis metionin. Tujuan reaksi ini untuk membentuk protein-protein yang mengandung selenium (berupa selenosistein dan selenometionin) dengan menyerap dan mereduksi selenat (SeO_4^{2-}) (Staicu & Barton, 2017). Reaksi ini disebut sebagai assimilatori karena merupakan proses dalam metabolisme yang berfungsi membentuk zat-zat organik (senyawa protein) sebagai bagian kompleks makhluk hidup (Syamsudin, 2010). Mekanisme secara dissimilatory ditunjukkan pada gambar 2.5.

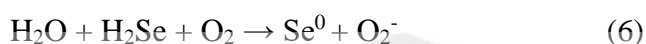
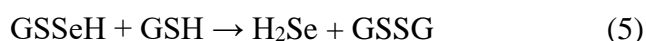


Gambar 2.5 Mekanisme reduksi SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} secara assimilatoris di dalam sitoplasma. (1) SeO_4^{2-} masuk ke dalam membran periplasma sel, (2) SeO_3^{2-} masuk ke dalam sel menembus membrane plasma, (3)

reduksi SeO_4^{2-} menjadi SeO_3^{2-} , (4-7) reduksi SeO_3^{2-} menjadi HSe^- (ion hydrogen selenide) dengan bantuan glutation, (8) reaksi enzim O-asetilserin thiol liase, (9) sintesis metionin, (10) sintesis selenofosfat, (11) sintesis selenosistein tRNA, (12) sintesis kofaktor selenium, (12) penggabungan asam amino yang mengandung Se ke dalam enzim (Staichu & Barton, 2017).

Rayman (2000) menyebutkan reduksi asimilatori selenat (SeO_4^{2-}) dapat terjadi dalam keadaan aerob maupun anaerob dalam sel. Beberapa contoh selenoenzim hasil reduksi asimilatori yaitu glutation peroksidase (GSH-PX), thioredoksin reduktase (TrxRs), tetraiodothyronine deiodinase, dan selenofosfat sintase, sedangkan contoh selenoprotein antara lain selenometionin (SeMet), metionin (Met), dimetil selenida (DMSe), dimetil diselenida (DMDSe). Selenoprotein dihasilkan melalui proses metilasi dalam bakteri dengan bantuan enzim selenometil transferase (Schrauzer, 2000; Dong *et al.*, 2002; Triana dkk, 2010).

Thiol menurut Neuhierl *et al.* (1999) merupakan salah satu bentuk enzim pereduksi senyawa selenium, enzim ini memiliki kesamaan dengan protein enzim selenometil transferase (SMT). Thiol mengandung glutation (GSH) dan thioredoksin (TRX) yang disekresikan oleh sitosol dengan fungsi melindungi sel dari berbagai stress oksidatif (Tanaka *et al.*, 2002)). Salah satu mekanisme detoksifikasi selenit (SeO_3^{2-}) menurut Mezes dan Balogh (2009) dengan menggunakan glutation (GSH) untuk meningkatkan selenium elemental (Se^0) secara spontan dalam lingkungan aerobik (3-6). Reaksi detoksifikasi selenit (SeO_3^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0) ditunjukkan pada gambar 3.2 (b-3) dan gambar 2.5 (4-8).



Reamer & Zoller (1980) menjelaskan volatilisasi juga termasuk bagian dalam siklus selenium. Bentuk selenium yang tervolatilisasi menguap ke atmosfer berupa dimetil selenide (DMSe), dimetil diselenide (DMDS_e), dan hidrogen selenide (H₂S). Senyawa selenium dalam bentuk gas terbentuk akibat volatilisasi oleh bakteri sifatnya tidak lebih toksik dari selenium terlarut dalam air (Flury *et al.*, 1997). Eswayah (2018) menyebutkan beberapa bakteri (khususnya golongan *methanobacterium*) yang mampu menghasilkan gas-gas selenium melalui metilasi-volatilisasi berada dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1 Jenis bakteri penghasil gas selenium (DMSe dan DMDS_e).

Organisme	Substrat	Produk	Referensi
<i>Corynebacterium</i> sp.	SeO ₄ ²⁻ , SeO ₃ ²⁻ , Se ⁰	DMSe	(Doran & Alexander, 1977)
<i>Aeromonas</i> sp.	SeO ₄ ²⁻	DMSe, DMDS _e	(Chau <i>et al.</i> , 1976)
<i>Rhodociclus tenuis</i>	SeO ₄ ²⁻ , SeO ₃ ²⁻	DMSe, DMDS _e	(McCarthy <i>et al.</i> , 1993)
<i>Aeromonas veronii</i>	SeO ₄ ²⁻ , SeO ₃ ²⁻ , Se ⁰ , SeS ₂ , H ₂ SeO ₃	DMSe, DMDS _e , methyl selenol, DMSe, DMSeS	(Rael & Frankenberg er, 1996)
<i>Bacillus</i> sp.	SeO ₄ ²⁻ , SeO ₃ ²⁻ , selenocyanate	DMSe, DMSeS, DMDS _e , DMSeDS, DMDS _e S, DMTSe,	(Burra <i>et al.</i> , 2010)

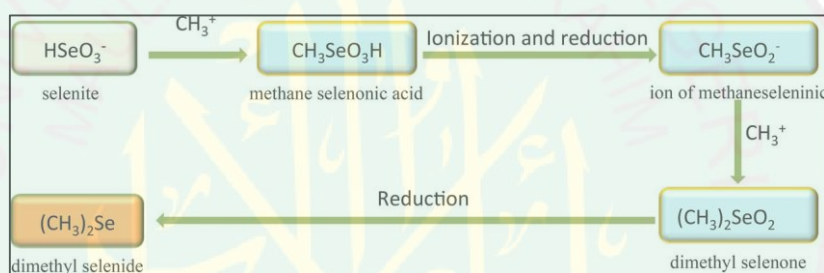
<i>Rhodospirillum rubrum S1</i>	SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-}	DMSe, DMDSe	(Stalder & Chasteen, 1998)
<i>Desulfovibrio gigas</i>	SeO_3^{2-}	DMSe, DMDSe	(Michael <i>et al.</i> , 2000)
<i>Methanobacterium formicicum</i>	SeO_3^{2-}	DMSe, DMDSe	(Michael <i>et al.</i> , 2000)
<i>Pseudomonas fluorescens K27</i>	SeO_4^{2-}	DMSe, DMDSe, DMSeS	(Chasteen & Bentley, 2003)
<i>Citrobacter freundii KS8</i>	SeO_4^{2-} ,	DMSe, DMDSe, DMSeS	(Chasteen & Bentley, 2003)
<i>Pseudomonas strain Has.28</i>	SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-}	DMSe, DMDSe	(Chasteen & Bentley, 2003)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-}	DMSe, DMDSe, DMSeS	(Dungan <i>et al.</i> , 2003)
<i>Pseudomonas stutzeri NT-1</i>	SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-} , Bio Se^0	DMSe, DMDS	(Kagami <i>et al.</i> , 2013)

Keterangan: DMSe = dimetil selenida; DMDSe = dimetil diselenida; DMSeS = dimetil selenid sulfida; DMDSeS = dimetil diselenid sulfida.

Metilasi merupakan proses masuknya gugus metil ke dalam molekul (Syamsudin, 2010). Jalur metilasi selenium melibatkan reaksi reduksi dan metilasi secara bersamaan. Banyak referensi yang memaparkan jalur biometilasi selenium disertai dengan fakta ilmiah didalamnya. Menurut Bird & Challenger (1942) sebuah enzim metil transferase mampu memetilasi selenium, seperti metilasi selenit (SeO_3^{2-}) pada fungi, bakteri (Ranjard *et al.*, 2002), dan beberapa tanaman hiperakumulator (LeDuc *et al.*, 2004). Proses metilasi selenium, menggunakan selenit (SeO_3^{2-}) dan selenium elemental (Se^0) yang merupakan senyawa anorganik dirubah menjadi senyawa organik (Reamer & Zoller, 1980).

Skema metilasi selenit (HSeO_3^{2-}) pada bakteri membentuk asam metanoselenoid ($\text{CH}_3\text{SeO}_3\text{H}$). Proses ionisasi dan reduksi asam metanoselenoid

($\text{CH}_3\text{SeO}_3\text{H}$) menghasilkan ion-ion metanoselenoid yang akhirnya kembali termetilasi hingga membentuk dimetil selenone ($(\text{CH}_3)_2\text{SeO}_2$ atau DMDSeS). Proses reduksi, mengubah dimetil selenone menjadi molekul yang lebih sederhana yaitu dimetil selenide (gambar 2.6) Konsentrasi rendah pada selenit (SeO_3^{2-}) (berkisar antara 1 – 10 mg/L Se) menghasilkan dimetil selenida (DMSe) sebagai produk metilasi, sedang dimetil diselenida (DMDSe) atau dimetil selenone (DMSeS) dihasilkan pada konsentrasi selenit (SeO_3^{2-}) yang lebih tinggi (10-1000 mg/L) (Bird & Challenger, 1942).



Gambar 2.6 Proses metilasi selenit (SeO_3^{2-}) pada bakteri methanogen (Bird & Challenger, 1942)

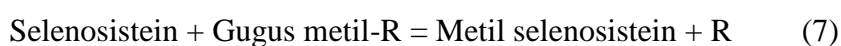
2.4 Gen Selenometil Transferase (*smt*)

Selenometil transferase (*smt*) merupakan suatu gen yang menyandi sintesis protein enzim *selenocysteine se-methyltransferase* (SMT) (Neuhierl *et al.*, 1999). Wang *et al.* (1999) menyatakan gen *smt* pertama kali diisolasi dari tanaman pengakumusi selenium. Isolasi gen *smt* didasarkan pada peran protein SMT dalam meresistensi organisme terhadap lingkungan yang mengandung selenium tinggi. Protein SMT bekerja sebagai enzim yang mengkatalisis metabolisme selenium yang terakumulasi dalam sel melalui detoksifikasi. Mekanisme detoksifikasi selenium pada organisme menurunkan tingkat toksisitas selenium yang kemudian menjadi dasar sifat resisten organisme terhadap senyawa selenium. Neuhierl &

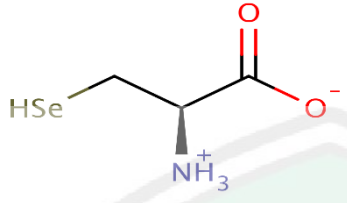
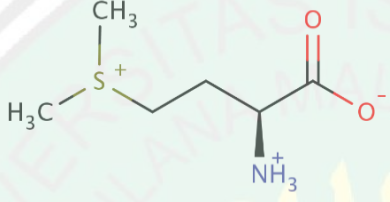
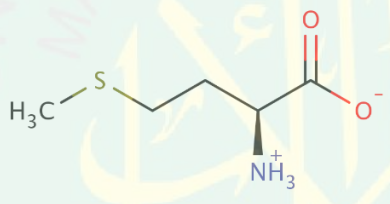
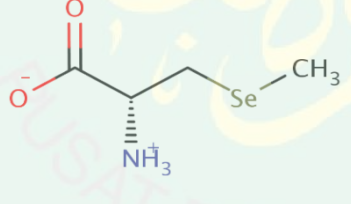
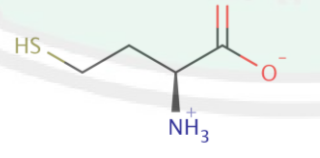
Bock (2002) menjelaskan gen *smt* disebut sebagai gen yang menyandi sifat resisten selenium pada tanaman Huang Qi (*Astragalus bisulcatus*) dan Kubis (*Brassica oleracea*).

Gen *smt* mampu mengkatalisis metilasi selenosistein dan selenohomosistein membentuk senyawa selenium lain yang termetilasi. Metilasi merupakan sebuah mekanisme penambahan gugus metil (CH₃) pada suatu substrat atau proses penggantian atom (gugus fungsi) oleh gugus metil sehingga merubah sifat kimiawinya. Proses metilasi pada organisme disebut biometilasi umumnya berupa sebuah mekanisme perubahan susunan unsur logam berat menjadi turunannya sehingga unsur logam dapat masuk ke dalam rantai makanan dalam bentuk organik. Modifikasi struktur logam berat dalam sel organisme penting untuk regulasi ekspresi gen dan fungsi protein, serta proses sintesis RNA. Metilasi dalam metabolisme sel, dikatalisis oleh enzim spesifik (Matthews *et al.*, 2003).

Metilasi oleh gen *smt* terjadi melalui penggabungan metil (donor metil) dengan substrat selenosistein ataupun selenohomosistein sehingga membentuk metil selenosistein dan selenometionin (7, 8). Kelompok metil yang biasanya tergabung dapat berupa gugus metil metionin (Brown & Shrift, 1982)., sedangkan pada metilasi selenohomosistein lebih dominan menggunakan adenosil metionin. Reaksi metilasi pada gen *smt* sebagai berikut (Neuhierl & Bock, 1996):



Tabel 2.2 Struktur kimiawi senyawa selenoprotein

No.	Struktur Kimiawi	Jenis Gugus Protein
1.		Selenosistein (<i>selenocysteine</i>)
2.		Metil metionin (<i>methyl methionine</i>)
3.		Metionin (<i>methionine</i>)
4.		Metil selenosistein (<i>methyl selenocysteine</i>)
5.		Homosistein (<i>homocysteine</i>)

Keterangan: Struktur kimiawi (1) selenosistein, (2) metil metionin, (3) metionin, (4) metil selenosistein dan (5) homosistein (Lyi *et al.*, 2005; Lyi *et al.*, 2007).

Gen *smt* menyandi sintesis protein holoenzim selenosistein metiltransferase (SMT). Protein ini merupakan sebuah protein monomer yang

berukuran 38 kDa yang bekerja pada pH optimum 7.5 dan suhu 30°C. Nilai K_m berkisar antara 15 μM untuk S-adenosylmethionine dan 0,35 mM untuk DL-selenocysteine. Gen *smt* memiliki spesifikasi pada selenium, dengan bereaksi mengkatalisis 1.000 kali pada substrat selenosistein dan sistein. Selenosistein merupakan senyawa selenium organik utama yang disintesis oleh sel ketika terdapat unsur selenium dalam proses metabolisme sulfur (S). Mekanisme ini sebagai jalur detoksifikasi selenium yang terserap ke dalam tubuh organisme. Detoksifikasi komponen selenium merupakan mediasi untuk membebaskan gugus fungsi selenol dari molekul-molekul asing. Proses metilasi yang terjadi dapat menutupi gugus fungsi selenol dan menandai molekul tertentu untuk tujuan penyimpanannya dalam sel (Neuhierl & Bock, 1996).

Homosistein metiltransferase (HMT) merupakan holoenzim yang memiliki karakter serupa dengan SMT karena mampu memetilasi senyawa selenium membentuk organoselenium (protein yang disintesis dalam metabolisme selenium). Enzim HMT terdapat pada organisme yang resisten pada selenium namun tidak mampu mengakumulasi selenium dalam selnya. Enzim HMT terekspresi pada beberapa kelompok yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) dan bakteri *Escherichia coli* (Thanbichler *et al.*, 1999). HMT umumnya menggunakan sulfur sebagai substrat akseptor metil, sedangkan SMT menggunakan selenium (Lyi *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006).

Enzim HMT berperan menghasilkan selenometionin dengan menggunakan selenohomosistein sebagai substratnya. Donor metil dalam metabolisme enzim HMT juga berasal dari adenosil metionin seperti pada metilasi gen *smt*. Katalisis

homosistein juga diperantarai oleh enzim HMT yang mempercepat reaksi biokimiawi dan menghasilkan 2 molekul metionin. Ranocha *et al.* (1999) menyatakan aktifitas pembentukan metionin dengan enzim HMT serupa dengan aktifitas gen *smt* pada tanaman *Arabidopsis thaliana*.

Sintesis gen *smt* pada *B. oleracea* juga menghasilkan gen *smt*, ekspresi yang ditunjukkan oleh tanaman sebagai respon enzim adalah meningkatkan kemampuannya dalam hal toleransi, sifat akumulasi dan volatilisasi terhadap cekaman lingkungan yang mengandung selenium dalam jumlah tinggi. Beberapa jenis bakteri juga mampu menerapkan konsep volatilisasi selenium anorganik hingga merubah bentuk selenium yang tidak toksik dalam wujud gas. Volatilisasi merupakan proses merubah komponen senyawa kimiawi menjadi gas yang akan dilepaskan ke udara bersamaan dengan respirasi sel (LeDuc *et al.*, 2004). Lewis *et al.* (1966) menyatakan gas hasil volatilisasi selenium yang terlepas di udara diantaranya adalah dimetil selenide (DMSe), dimetil diselenida (DMDS_e), dan gas hidrogen selenida (H₂Se).

Gen *smt* untuk pertama kali diisolasi dari tanaman-tanaman yang bersifat hiperakumulator pada selenium (Ranjard *et al.*, 2002). Perkembangan penelitian membawa insersi gen *smt* dari tanaman pada bakteri strain *Escherichia coli* untuk mengetahui ekspresi gen sesungguhnya. Penamaan gen *smt* berbeda di setiap jenis tanaman yang mensintesisnya, pada tanaman *A. bisulcatus* gen *smt* disebut SMTAb (Sors *et al.*, 2009), pada *B. oleracea* disebut SMTBo (Lyi *et al.*, 2007), pada *Astragalus chrysochlorus* disebut SMTAch (Ari *et al.*, 2013).

Informasi tentang gen SMTAb telah dianalisis oleh Neuhierl *et al.* (1999), gen ini terletak pada lokus AJ131433 (menurut database NCBI dengan kata kunci *selenocysteine methyltransferase* atau SMTAb *gene*) dengan ukuran panjang RNA berkisar antara 1447 bp berupa tipe gen linear mRNA. Bagian sekuen yang mengkode gen SMTAb berada pada urutan region gen 58 hingga 1074 bp gen ini berfungsi dalam proses metilasi selenosistein. Hal tersebut dibuktikan dengan urutan gen ke 58-60 berisi sekuen ATG, jika diterjemahkan menjadi AUG (start kodon) dan triplet basa terakhir urutan 1071-1074 berisi sekuen TGA yang ketika diterjemahkan menjadi UAG (stop kodon selain UAA dan UGA) (Gambar 2.7).

```

ORIGIN
1  aggaaatcag aaatatttca taaaccacc cttcctcctt cggtttcggg tatcgaaatg
61  tcgtcgccat tgataaccga tttcctccat caggctgggc gagcggctgt catcgccggc
121 ggtttaggga cggagcttca acgtcatggc gccgacctca acgatccact ttggagcgcc
181 aaatgctcc tttcctgccc tcacctcatt cgccagggtc atcttgatta cctagaaaaa
241 ggtgcagata ttattattac agcatcttat caagccacca ttcaagggtt taaggcgaaa
301 ggcttttctg atgaagaagg tgaagccctg cttaggagaa gtgttgagat tgcccggag
361 gctcgtgatt tgattatca aagatgtgct gagtcctctt cagataatgg ggatgatagt
421 agaateccta agcaacggcc tatecctaatt cgggatcag tagggagcta tggccttat
481 ttggctgatg gatcagagtt cagtgggaat tatggtgatg ctatcaagtc ggaactctt
541 aaagatttcc accggagaaa agttcaaat ttggcagatt cagggtgga cctgcttgca
601 ttggaagcag ttccaataa gcttgaagct caggcttatg cagatcttct ggaagaggag
661 aacataatta ctccagcatg gtttgcgttt acctcaagg atggaaataa tgtgttagt
721 ggtgattcaa tagaggaatg tggctctatt gctgaatcat gcgacaaaagt agttgcggtt
781 ggaatcaact gtacccacc tagatttata catgatctga tacttctgct taagaagggtg
841 actgcaaac caattggtat atatccaaat agcgggaaa cttatgatgc tatccgaaaa
901 gagtggggc aaaattcagg tttacagat gaagattttg tctcatatgt tgataaatgg
961 tgtgagtcag gggcttccct ttaggtggc ttttcagaa cgaccctga taccattaga
1021 gggatataca aaatactctc cagcgggcaa tctcctactt tttctcaaa gtgaccactc
1081 tgtcatcaga aacgaggcaa atgtgcaaac aaatctacta gtaatttcca tgtcaagaag
1141 gcgagtagct gaactgggtt gtgttggcac tcaaatattt tcaactgtgt agttaatgtt
1201 gagtctgcat agacacataa atagttgatc tcaaatattg ttttgtttat aagcttgtgt
1261 atattggcaa gcagattaga aaataatgac aaattactat atgctttata aacaactggt
1321 gatattggca agcagattag aaaataatga caaattacta tatgctttat aaacaactgt
1381 tgtggccaag acaaatattg taaacaaaaa ccaactataa atattacaaa aaactcaatg
1441 ggtgtt

```

Gambar 2.7 Sekuen mRNA gen SMTAb (sumber *gene bank* NCBI, 2019).

2.5 Manfaat Deteksi Gen *smt* sebagai Obat Anti Kanker

Kelebihan kadar selenium dalam tubuh dapat menyebabkan beberapa masalah kesehatan seperti kerusakan pada jaringan rambut/kuku dan kecacatan pada embrio (Moxon, 1937; Eisler, 1985; Lemly & Smith, 1987; Sorenson, 1991)

akan tetapi dalam beberapa enzim dan protein yang mengandung unsur selenium dapat berfungsi sebagai antioksidan yang melawan pertumbuhan sel kanker (Rotruck *et al.*, 1973; Tamura & Stadtman, 1996; Larsen & Berry, 1995).

Whanger (2002) menyebutkan beberapa jenis senyawa selenium dalam bentuk protein berpotensi menjadi obat anti kanker, hal tersebut dibuktikan dengan serangkaian penelitian yang menggunakan beberapa jenis seleno-protein untuk melawan kanker payudara (Tabel 2.2). Hasil penelitian tersebut menunjukkan metil selenosistein (MSC) dan selenobetain merupakan seleno-protein paling efektif digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Menurut Dong *et al.* (2002) metil selenosistein (MSC) merupakan bentuk senyawa selenium yang dapat melawan sel kanker karena dapat menghambat siklus sel dan menginduksi terjadinya apoptosis.

Tabel 2. 3 Jenis-jenis selenoprotein terbaik sebagai kandidat penghambat kanker.

Compounds	Dose of Selenium for 50% inhibition (ppm)
Se-methylselenocysteine	2
Selenobetaine	2
Selenobetaine methyl ester	2-3
Selenite	3
Selenomethionine	4-5
Selenocysteine	4-5
PXCS*	8-10

Keterangan: se-methylselenocysteine dan selenobetaine merupakan kandidat terbaik sebagai protein penghambat pertumbuhan sel kanker (Whanger, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini didesain sebagai jenis penelitian eksplorasi eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Data disajikan secara deskriptif meliputi analisa pita DNA hasil amplifikasi dan analisa homologi gen hasil amplifikasi.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari sampai dengan bulan Agustus 2019. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Uji sekuensing dilakukan di Bioneer Korea Selatan.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, *Laminar Air Flow*, inkubator, oven, panci destruk, neraca analitik, *PCR Thermal Cyclers*, elektroforesis, nanodrop, gel-doc transilluminator, *waterbath*, *microwave*, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, cawan petri, tabung reaksi, bunsen, gelas ukur 100 ml, gelas beaker, erlenmeyer, pipet volume, bola hisap, spatula, pengaduk kaca, stirrer, jarum ose, tube 1.5 ml, dan sentrifus.

3.3.2 Bahan

Media kultur isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah media NA (*Nutrient Agar*) dan LB (*Luria Bertani*). Bahan kultur bakteri

menggunakan sodium selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$). Bahan isolasi dan purifikasi DNA menggunakan kit (NEXprep™-Cell/Tissue DNA Mini Kit) dan bahan amplifikasi gen *smt* terdiri dari *Nuclease Free Water* (NFW), *PCR mix* (Tris-HCl 10 mM pH 8.8), KCl 50 mM, Nonidet P40 0.08%, MgCl_2 2.5 mM, dNTPs 0.22 mM, U DNA Taq Polymerase, dan primer spesifik gen *smt* sesuai Triana dkk. (2010) (*forward primer* 5'-CAAGCCACCATTCAAGGTTT-3' dan *reverse primer* 5'-CCCTACTGATCCCGCAATTA-3'). Bahan untuk elektroforesis meliputi serbuk gel agrose, Ethium bromida (EtBr), *loading dye*, buffer TBE, marker 100 bp dan 500 bp.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi dilakukan pada beberapa alat yang digunakan dalam penelitian. Proses sterilisasi ditujukan untuk menghindari kontaminasi oleh bakteri lain yang kemungkinan dapat tumbuh pada media. Alat-alat gelas dicuci bersih kemudian dikeringkan dan dibungkus plastik yang tahan terhadap suhu tinggi. Sterilisasi cawan petri dilakukan dengan cara dicuci bersih kemudian dibungkus dengan kertas. Cawan petri yang telah terbungkus kertas dimasukkan ke dalam plastik yang kuat dan tahan terhadap suhu tinggi. Langkah berikutnya, semua alat gelas dan bahan yang perlu disterilkan di masukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 60 menit (Block, 2001).

3.4.2 Pembuatan Media NA

Isolat bakteri resisten selenium (Se) yang digunakan dikultur dalam media *Nutrient Agar* (NA). Media NA ditimbang sebanyak 23 gram dan

dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 1000 mL, kemudian dicampur dengan aquades 1.000 mL. Bagian mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas berbalut kasa. Selanjutnya, media dipanaskan di *hotplate* dan dihomogenkan dengan stirer. Media NA yang telah homogen disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm. Media dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 19,8 mL dan ditambahkan 200 µL sodium selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) dari larutan stok konsentrasi 100 mM. Media yang telah padat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk mengetahui adanya kontaminasi oleh bakteri atau mikroba lainnya.

3.4.3 Kultur Isolat Bakteri dalam Media NA

Media pertumbuhan yang dinyatakan steril dari kontaminan setelah diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37 °C dapat digunakan sebagai media kultur. Mengacu pada Amalia (2017), 10 µL isolat bakteri dalam larutan gliserol diambil kemudian dituang ke dalam media NA. Isolat bakteri dikultur dengan teknik sebar (*spread plate*) kemudian diinkubasi dalam suhu 37 °C selama 24-72 jam. Bakteri yang tumbuh diamati pertumbuhannya secara makroskopis (meliputi warna koloni dan bentuk koloni) dan secara mikroskopis. Bakteri yang mereduksi dan mengakumulasi selenit ditandai dengan pertumbuhan koloni yang berwarna merah, sedangkan koloni bakteri yang tumbuh dan berwarna putih dinyatakan negatif (Avendano *et al.*, 2016). Isolat bakteri yang dinyatakan positif kemudian diperbanyak melalui teknik peremajaan untuk proses isolasi DNA bakteri.

3.4.4 Isolasi DNA Genom pada Bakteri Resisten Selenit

Isolasi DNA Genom pada bakteri resisten selenium dilakukan dengan mengkultur satu koloni tunggal bakteri ke dalam 10 mL media cair Luria Bertani (LB) dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm. Isolat bakteri diambil sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm dalam waktu 10 menit. Bagian supernatan diambil secara perlahan hingga menyisakan pelet. Pelet diresuspensi dengan 180 μ L larutan GT1, 200 μ L buffer GT2 dan 20 μ L Proteinase-K. Larutan divortex hingga homogen kemudian diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 65 °C selama 10 menit. Larutan yang diinkubasi harus dihomogenkan dengan cara tube dibalik perlahan setiap 5 menit.

Setelah proses inkubasi, ditambahkan 200 μ L etanol absolut dan divortex selama 1 menit. Tabung penyaring dipasang ke tube baru, larutan dituang ke tabung penyaring kemudian disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Proses ini diulang hingga 3 kali dengan ulangan pertama ditambahkan 500 μ L larutan buffer W1, ulangan kedua ditambahkan 700 μ L buffer IRS-2. Proses terakhir, tabung penyaring dipasang pada tube 1.5 mL dan ditambahkan 50 μ L buffer elusi kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 1 menit. Tube disentrifus dengan 13.000 rpm selama 1 menit sebelum disimpan di suhu -20 °C.

Isolat DNA yang telah diisolasi diuji konsentrasi dan kemurniannya menggunakan alat nanodrop. 1 μ L isolat DNA dimasukkan ke bagian lubang pendeteksi pada nanodrop dan digunakan panjang gelombang 260 nm untuk

absorbansi DNA sedangkan 280 nm untuk protein. Kadar kemurnian DNA berada dalam range 1.8 hingga 2, sedangkan standar minimum konsentrasi DNA adalah 26 ng/ μ L. Isolat DNA diuji secara kualitatif melalui elektroforesis dengan menggunakan gel konsentrasi 1.5%. 3 μ L isolat DNA ditambahkan 2 μ L *loading dye* dan dimasukkan ke dalam sumuran gel. Gel dielektroforesis dalam larutan buffer TBE 1X selama 35 menit 65 volt. Hasil gel elektroforesis divisualisasi melalui gel doc transilluminator.

3.4.5 Isolasi dan Amplifikasi DNA Gen *smt*

Proses amplifikasi dilakukan melalui PCR dengan primer spesifik yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen *smt*. Hasil isolasi DNA diambil 3 μ L ditambahkan PCR *mix* 12,5 μ L, *forward primer* 1.25 μ L 100 μ M, *reverse primer* 1.25 μ L 100 μ M, dan larutan *nuclease free water* (NFW) 7 μ L. Larutan PCR *mix* yang digunakan terdiri dari 1.1x PCR *buffer* (10 mM Tris-HCl pH 8.8), 50 mM KCl, 0.08% Nonidet P40, 2.5 mM MgCl₂, 0.22 mM dNTPs, 2.5 μ M Primer PCR, dan 25 U DNA Taq polymerase. Konsentrasi akhir dari primer adalah 5 μ M dalam total volume keseluruhan bahan dalam tube PCR 25 μ L. Proses amplifikasi diawali dengan tahap pra-denaturasi dengan suhu 95°C selama 1 menit (1 siklus), kemudian dilanjutkan 40 siklus yang terdiri dari: denaturasi 95°C selama 40 detik, annealing suhu 55°C, dan elongasi menggunakan suhu 72°C selama 1 menit.

3.4.6 Uji Kualitatif Hasil Amplifikasi Gen *smt* dengan Elektroforesis

Hasil PCR dapat diketahui melalui elektroforesis dengan melihat adanya pita yang muncul pada gel agarose. Gel agarose yang digunakan memiliki

konsentrasi 2% dengan EtBr 0.5 ppm (Dafaa'ala *et al.*, 2000). 10 μ L sampel dicampur dengan 2 μ L *loading dye* dimasukkan dalam sumuran gel (*well*) dan marker yang digunakan berukuran 100 bp sebanyak 2 μ L. Gel direndam dalam larutan buffer TBE 1x yang mengandung konsentrasi EtBr 0,5 ppm, kemudian dielektroforesis dengan arus listrik 65 V selama 40 menit. Hasil elektroforesis gen *smt* berada dalam kisaran 190 bp (Triana dkk., 2010).

3.4.7 Uji Sekuensing Gen *smt*

Uji sekuensing gen *smt* dilakukan di *Bioneer Sequencing Service* dengan tujuan mengetahui urutan nukleotida gen *smt* hasil amplifikasi. Total volume sekuensing yang dikirimkan yaitu 25 μ L dari masing-masing sampel IRS-1 dan IRS-2, sedangkan primer *forward* dan *reverse* sebanyak 26 μ L yang digunakan untuk analisis masing masing.

3.5 Analisis Data

3.5.1 Analisis Data Hasil Penelitian

3.5.1.1 Data Kualitatif

Data kualitatif diperoleh dari hasil pembacaan alat gel-doc transilluminator yang menunjukkan panjang pita DNA yang berhasil diamplifikasi dalam proses PCR. Keberhasilan PCR dapat dilihat dari kualitas separasi marker dan pita DNA yang muncul.

3.5.1.2 Analisis Homologi Gen *smt*

Analisis homologi gen *smt* bakteri dilakukan dengan mengolah data hasil sekuensing. Data yang diterima diolah dengan *software Seqscanner* untuk

mengetahui hasil pembacaan basa nukleotida. Analisis homologi menggunakan web NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*). Sekuen yang memiliki nilai presentase kemiripan tertinggi diunduh, kemudian dilakukan penyejajaran (*alignment*) sekuen menggunakan *software* BioEdit. Hasil sekuen yang telah disejajarkan disimpan dalam format FASTA dan diimport ke dalam *software* MEGA 6.0 untuk rekonstruksi filogenetik. Model algoritma yang digunakan adalah *Neighbor Joining* (NJ).

3.5.2 Analisis Integrasi Sains dan Islam

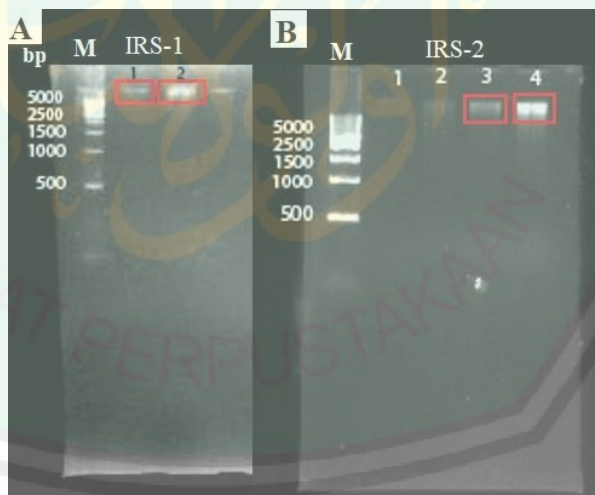
Analisis tersebut adalah analisis nilai-nilai agama Islam dan kajian keislaman berkaitan dengan penelitian yang dilakukan. Pedoman dari kitab suci Al-Qur'an dan Al Hadist yang kemudian diintegrasikan dengan hasil penelitian sehingga diperoleh pemahaman tentang kesadaran terhadap peran manusia sebagai hamba Allah.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi DNA Genom Bakteri dan Amplifikasi Gen *smt*

Gambar 4.1 merupakan hasil elektroforesis DNA genom isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2. Berdasarkan pada gambar 4.1 tersebut menunjukkan pita DNA genom isolat IRS-1 terdapat pada gambar A dengan kode IRS-1.1 dan IRS-1.2. Berdasarkan gambar tersebut, dapat diketahui pita DNA dengan kode IRS-1.2 lebih jelas jika dibandingkan dengan IRS-1.1. Gambar 4.1 B merupakan hasil isolasi DNA genom isolat IRS-2 dengan kode ulangan 1, 2, 3, dan 4. Berdasarkan Gambar 4.1 B, pita DNA isolat IRS-2 dengan kode ulangan 3 dan 4 menunjukkan hasil paling jelas dari kedua pita lainnya.



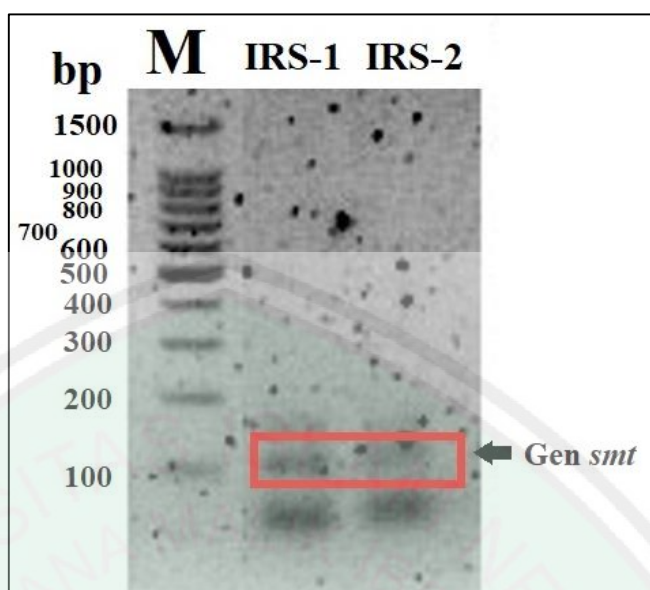
Gambar 4.1 Hasil elektroforesis DNA genom bakteri. Gambar A: Isolat IRS-1; Gambar B: Isolat IRS-2 (kode 1 dan 2 = sampel 5 μ L; 3 dan 4 = jumlah sampel 10 μ L).

Perbedaan dalam hasil visualisasi DNA genom disebabkan oleh perbedaan jumlah sampel yang digunakan. Perbedaan jumlah sampel yang dimasukkan dalam sumur (well) didasarkan pada kemurnian dan konsentrasi sampel DNA yang

diperoleh (Lampiran 4.4). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Murtiyaningsih (2017) bahwa kecilnya konsentrasi sampel DNA dan kontaminasi berpengaruh pada hasil pita DNA yang smear dan tidak akurat.

Gambar 4.1 juga menunjukkan hasil visualisasi pita band yang berbeda-beda dengan ukuran yang sama yaitu lebih dari 5000 bp. Ukuran pasti DNA genom yang diisolasi tidak diketahui karena separasi marker yang tidak sempurna. Berdasarkan Land *et al.* (2015) setidaknya ada 10.000 bp DNA pada genom bakteri yang diperoleh dari *Pseudomonas avellanae*. Mutasi dan peralihan genetik menjelaskan perbedaan ukuran genom pada bakteri. Mutasi delesi lebih berpengaruh terhadap pengurangan ukuran gen daripada mutasi insersi (Mira *et al.*, 2001).

Tahap untuk mendeteksi adanya gen *smt* pada DNA genom isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 yaitu melalui amplifikasi dengan primer spesifik gen *smt*. Hasil elektroforesis setelah proses amplifikasi menunjukkan dugaan kedua isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 memiliki gen *smt* dengan ukuran *band* lebih dari 100 bp. Hasil sekuensing memberikan data panjang gen *smt* lebih spesifik, yaitu 118 bp untuk isolat IRS-1 dan 124 bp untuk isolat IRS-2. Hasil amplifikasi gen *smt* pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 ditunjukkan pada gambar 4.2 sebagai berikut ini.



Gambar 4.2. Visualisasi produk PCR menggunakan primer gen *smt*. M: Marker 100 bp.

Berdasarkan gambar 4.2, isolat IRS-1 dan IRS-2 diduga memiliki gen *smt* dengan kisaran panjang 100 bp. Pita hasil visualisasi gen *smt* pada gambar ditandai dalam kotak merah yang ditunjukkan oleh tanda anak panah. Hasil visualisasi pita gen *smt* pada kedua isolat sangat tipis dan menunjukkan adanya smear. Teknik dalam pipetting juga berpengaruh dalam menentukan kualitas hasil amplifikasi DNA. Selain itu hasil visualisasi hasil amplifikasi yang tipis menurut Arifiani (2017) dapat mengindikasikan kualitas DNA yang kurang baik. Sesuai dengan hasil uji kuantitatif yang menunjukkan kemurnian dan konsentrasi yang rendah (Lampiran 3.4).

Irmawati (2003) menyatakan konsentrasi dan kemurnian tinggi pada hasil amplifikasi akan menghasilkan pita DNA/amplikon tebal, tidak menyebar, maupun smear. Pita DNA yang menyebar menunjukkan terdapat rantai molekul DNA yang terputus selama proses isolasi maupun amplifikasi. Selain itu, Sholihah

(2014) menambahkan kualitas pita DNA yang muncul saat visualisasi ditentukan oleh konsentrasi dan kemurnian DNA/maupun sampel hasil amplifikasi.

Belum diketahui secara pasti ukuran gen *smt* pada bakteri karena pada penelitian sebelumnya hasil amplifikasi gen *smt* juga berbeda-beda. Perbedaan ukuran gen resisten dapat didasarkan pada posisi gen dalam bakteri. Beberapa bakteri memiliki gen resisten pada DNA kromosom dan pada plasmid. Hasil penelitian Arifiani (2017) menunjukkan gen *methallothionine* (*smtAB*) yang diisolasi dari plasmid bakteri *Bacillus subtilis* berukuran 800 bp, sedangkan pada *Bacillus latesporus* memiliki panjang 600 bp. Keduanya merupakan isolat bakteri yang diketahui resisten terhadap logam Timbal (Pb).

Menurut Triana dkk (2010) panjang pita gen *smt* pada isolat *Geobacillus* sp. yaitu 190 bp. Berbeda dengan hasil penelitian Khan (2016) yang berhasil mengamplifikasi gen *smt* pada isolat *Salmonella enterica* memiliki panjang sekuen 309 bp, pada *Pectobacterium carotovorum* panjang gen *smt* 285 bp, dan pada *Klebsiella pneumonia* 306 bp. Sedangkan penelitian Neuhierl *et al.*, (1998) yang mengkarakterisasi gen *SMT* pada *Astragalus bisulcatus* diketahui panjang sekuen gen *SMT* 1447 dengan bagian koding sekuen (*cds*) berada pada urutan basa ke 58 – 1074.

Tahapan untuk mengetahui sesuai atau tidaknya gen yang diduga sebagai gen *smt*, perlu dilakukan uji lanjutan berupa insersi (penyisipan) gen *smt* pada plasmid pada isolat bakteri lain. Uji dalam tahapan ini membantu mengetahui ekspresi gen yang sesungguhnya, sehingga dapat menguatkan hasil analisis. Uji tersebut telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya, yaitu isolasi gen

smt dari tanaman hiperakumulator selenium seperti *A. bisulcatus*, *Brassica oleracea*, dan *Camelia sinensis* yang kemudian disisipkan pada plasmid bakteri *Escherichia coli* untuk meningkatkan resistensinya terhadap selenium (Kocsis *et al.*, 2003; LeDuc *et al.*, 2004; Lyi *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2008; Sora *et al.*, 2009; Cakur *et al.*, 2013).

Tahapan setelah amplifikasi gen *smt* adalah sequencing. Hasil dari sekuensing memberikan urutan basa nukleotida dari gen *smt* isolate bakteri IRS-1 dan IRS-2. Selain itu, manfaat dari sekuensing juga memberikan ukuran spesifik gen *smt* pada kedua sampel. Berdasarkan hasil sekuensing, posisi gen dapat diketahui berada dalam sebuah *Coding sequence* (cds) yang terdiri dari daerah promotor (*upsteam*) dan daerah unit transkripsi (*downstream*). Menurut Reece *et al.* (2014) gen *smt* berada dalam daerah unit transkripsi yang diawali dengan *start codon* dan *stop codon*. *Coding sequence* (cds) gen *smt* pada isolat IRS-1 berada pada urutan basa ke 25 dengan menyandi asam amino metionin (M), sedangkan pada isolat IRS-2 gen *smt* dimulai dari basa ke 29 yang juga menyandi asam amino metionin. Rangkaian *coding sequence* (cds) isolat IRS-1 dan IRS-2 ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Urutan nukelotida gen *smt* isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2. Bagian *coding sequen (cds)* diawali oleh *start codon* (3 basa dalam kotak hitam), dilanjutkan dengan daerah transkripsi gen *smt*.

Gambar 4.3 menunjukkan struktur gen *smt* dalam sebuah *coding sequence* (cds). Berdasarkan gambar tersebut, gen *smt* isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 masing-masing diawali oleh *start codon* yang sama yaitu ATG, namun berada dalam urutan yang berbeda. Daerah sebelum *start codon* disebut sebagai wilayah promoter. Daerah promoter pada cds IRS-1 berada pada basa pertama hingga basa ke-24, sedangkan pada cds IRS-2 berada pada urutan pertama hingga basa nomor 28. Arah transkripsi gen *smt* sesuai dengan yang ditunjukkan anak panah.

Coding sequence (cds) merupakan suatu bagian dari gen (DNA atau RNA) yang mengkode sejenis protein tertentu yang ditandai dengan *start codon* berupa ATG dan diakhiri oleh *stop codon* yaitu salah satu dari TAG, TAA, dan TGA (Griffiths *et al.*, 2000). Kodon TGA sebagai *stop codon* dalam *coding sequence* telah dianalisis oleh banyak penelitian sebelumnya, dengan gen yang mengkode

asam amino selenosistein (Sec) sebagai asam amino ke-21 yang berperan dalam sintesis selenoprotein (Kryukov *et al.*, 2003). Kodon TGA jika dirubah dalam mRNA menjadi UGA menjadi dikenal sebagai urutan elemen utama dalam penyisipan selenosistein (Heider *et al.*, 1992; Tujebajeva *et al.*, 2000).

Gen *smt* merupakan gen yang mengkode proses metilasi selenium anorganik menjadi selenoprotein melalui detoksifikasi. Metilasi terjadi dalam membran periplasmik bakteri yang dibantu oleh senyawa tioredoksin reduktase (TR) dan glutation sintase. Kedua enzim ini pada dasarnya disintesis oleh selenosistein (Jiang *et al.*, 2004). Pendekatan secara biologi dilakukan oleh Muller *et al.* (1994) membuktikan peran gen *smt* berperan dalam sintesis beberapa jenis senyawa tioredoksin yang mengandung selenium.

Detoksifikasi logam selenium pada bakteri melalui metabolisme merupakan suatu proses yang kompleks dalam ruang lingkup sel. Kompleksitas tersebut dapat dilihat dari banyak komponen yang terlibat untuk menjaga sel bakteri dari unsur toksik sekaligus merubahnya menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya. Kompleksitas makhluk hidup amat sempurna tidak lepas dari kesempurnaan Penciptanya.

Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat al-A'la ayat 2-3:

الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى (٢) وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى (٣)

Artinya: "Yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya). Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk."

Berdasarkan pada tafsir *Fi Zhilalil Qur'an*, ayat kedua dan ketiga dari surat Al A'la dimaknai bahwa hakikat dalam kehidupan yang diciptakan oleh Allah SWT, mulai dari hal kecil dan rumit hingga suatu hal yang besar seperti

alam semesta, keseluruhannya diciptakan telah disesuaikan oleh Allah dengan amat sangat sempurna. Kesempurnaan yang diberikan Allah pada ciptaan-Nya dapat dilihat dalam penelitian ini bagaimana bakteri resisten terhadap zat yang seharusnya beracun dan toksis bagi organisme. Allah menjadikan bakteri mampu resisten dan mengakumulasi selenit kemudian merubahnya hingga menjadi zat yang tidak lagi berbahaya seperti selenium elemental (Se^0) dan selenoprotein. Melalui hal ini, Allah memberikan petunjuk bagi manusia bagaimana Allah telah menciptakan bakteri dengan sebaik-baiknya (sempurna). Demikian, berdasarkan penelitian ini dapat diambil khazanah bahwa ilmu pengetahuan (Sains) dapat digunakan sebagai media oleh manusia untuk melakukan Tauhid, dengan fenomena alam sebagai objeknya sekaligus menjalankan peran manusia sebagai khalifah di bumi dengan belajar mengenal dan memahami fenomena yang ada di muka bumi.

4.2 Hasil Analisis Homologi Gen *smt*

Hasil dari sekuensing selanjutnya disejajarkan (*alignment*) dengan sekuen pada web server NCBI dengan menggunakan program BLASTn. Hasil analisis BLAST secara utuh dapat dilihat dalam lampiran 6.3. Beberapa informasi yang dapat diperoleh dari analisis BLAST adalah nilai *identity*, *e-value*, serta *bitscore*. Ketiganya menunjukkan perbandingan sekuen dengan data yang terdapat pada NCBI. Tujuan dari proses penyejajaran sekuen adalah untuk mengetahui homologi (kemiripan) gen *smt* pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 dengan organisme lainnya berdasarkan sekuen yang ada dalam *gene bank*. Berdasarkan

hasil penyejajaran gen *smt* pada isolate IRS-1 dan IRS-2 dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil blast gen *smt* isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2

No.	Kode Isolat	Hasil Blast		
		Nama Spesies	Homologi	Seq Id
1.	IRS-1	<i>Astragalus bisulcatus</i> mRNA for SMT	100%	AJ131433.1
		<i>Bacillus flexus</i> isolat 1-2-1	96.67%	CP040367.1
2.	IRS-2	<i>Astragalus bisulcatus</i> mRNA for SMT	100%	AJ131433.1
		<i>Bacillus flexus</i> strain KLBMP	96.67%	CP016790.1
		<i>Paenibacillus lautus</i> strain S022	90.32%	<u>MK579567.1</u>
		<i>Bacillus megaterium</i>	90.32%	<u>MG937652.1</u>
		<i>Mycobacterium</i> sp. DWMJ 1066A4	85%	<u>KU172702.1</u>

Ket: Homologi sekuen dalam tabel didasarkan pada kesamaan urutan nukleotida gen *smt* saat dilakukan penyejajaran sekuen melalui webserver BLAST-NCBI.

Tabel 4.1 dibuat berdasarkan skor presentase kemiripan (*perc. Ident*) paling tinggi yang muncul saat sekuen dilakukan penyejajaran sekuen hasil sequencing dengan data dalam NCBI. Tabel tersebut menunjukkan bahwa gen *smt* pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 memiliki kemiripan dengan tanaman *Astragalus bisulcatus* sebesar 100%. Besarnya nilai kemiripan gen *smt* pada isolat bakteri resisten selenium dengan tanaman *A. bisulcatus* dapat menjelaskan bahwa bakteri memiliki gen yang sama dengan tanaman. Penelitian Triana dkk. (2010) juga menunjukkan hasil yang sama bahwa gen *smt* pada *A. bisulcatus* memiliki nilai homologi 100% dengan gen *smt* pada bakteri *Geobacillus* sp. Hal tersebut dapat dimungkinkan terjadi ekspresi resistensi pada isolat bakteri disandi oleh jenis gen yang sama karena tanaman *A. bisulcatus* diketahui sebagai salah satu tanaman fitoremediator terhadap selenium serta mampu mengakumulasinya dalam jumlah tinggi (Cai *et al.*, 1995; Pickering *et al.*, 2003).

Homologi gen *smt* pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 juga memiliki kemiripan 96.67% dengan isolat *Bacillus flexus* strain 1-2-1 dan strain KLBMP. Hal tersebut menunjukkan bahwa gen *smt* pada isolat bakteri sampel tidak sepenuhnya mirip dengan gen *smt* pada isolat *Bacillus flexus* strain 1-2-1 ataupun strain KLBMP. Perbedaan nilai homologi disebabkan oleh perbedaan residual asam amino yang menyusun dibandingkan ketika dilakukan penyejajaran sekuen. Berdasarkan hasil *alignment* pada BLAST-NCBI, 30 sekuen basa dari sampel yang disandingkan dengan 30 sekuen basa *Bacillus flexus* strain 1-2-1 ataupun strain KLBMP memiliki kecocokan pada 29 basa (Lampiran 6.4). Hal demikian terjadi karena adanya perbedaan basa.

Walaupun rasio homologi berdasarkan nilai *identity* menunjukkan kemiripan gen *smt* antara sekuen isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2, akan tetapi nilai *e-value* lebih signifikan ketika digunakan dalam menentukan homologi protein dalam organisme. *E-value* pada *Bacillus flexus* strain 1-2-1 ataupun strain KLBMP 0.01, sedangkan pada *Astragalus bisulcatus* adalah 5.4. Menurut Pearson (2013) nilai *e-value* yang berada dalam rasio 0,01 hingga $1e^{-50}$ menunjukkan hasil homologi yang signifikan. Sedangkan jika rasio *e-value* antara 0,01 hingga 10, menunjukkan bahwa penyejajaran sekuen tidak signifikan atau jika dibuat kesimpulan terdapat homologi dengan jarak yang relatif jauh. Hal tersebut sesuai, karena secara taksonomi jarak gen pada bakteri lebih jauh jika dibandingkan dengan tanaman.

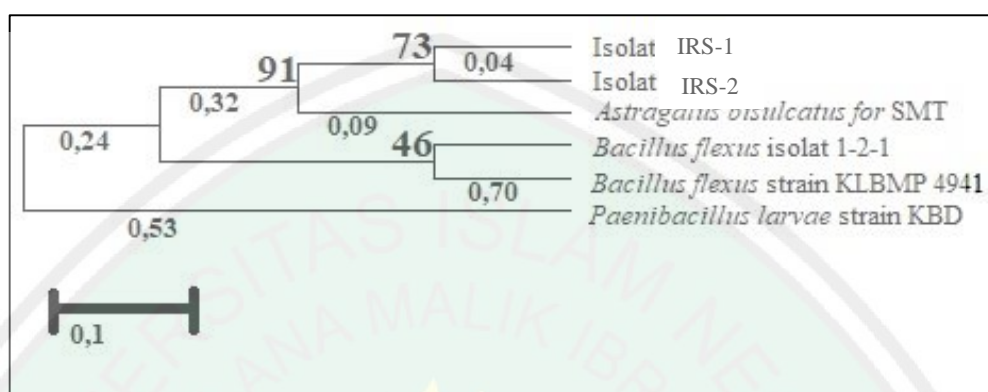
Triana dkk. (2010) menyebutkan homologi gen *smt* pada bakteri *Geobacillus* sp. menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan kelompok gen yang

menyandi ekspresi enzim tiolase dan karboksilase. Kedua enzim tersebut berperan mengatasi stress oksidatif selenit yang terjadi di bagian sitoplasma sel bakteri. Kelompok enzim tiolase terdiri dari beberapa jenis selenoenzim, diantaranya adalah glutathion peroksidase, tioreksin reduktase, selenofosfat sintase, dan lainnya (Staicu & Barton, 2017). Gen *smt* memiliki kaitan erat dengan enzim tiolase karena menjadi digunakan dalam sintesis selenoenzim yang serupa. Sesuai dengan pendapat Neuhierl *et al.* (1999) bahwa gen *smt* merupakan perkembangan (derivat) gen tiolase yang terjadi karena tekanan konsentrasi metionin. Uraian tersebut menguatkan sebab nilai homologi gen *smt* isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 memiliki nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan *A. bisulcatus*.

Gen *smt* praktis dimiliki oleh organisme yang menggunakan selenium dalam proses metabolismenya (Macy *et al.*, 1989). Gen tersebut berperan dalam mengkatalisis proses metilasi komponen pembentukan selenosistein dan selenometionin yang digunakan dalam bahan sintesis enzim pereduksi selenium tingkat tinggi ((Lyi, 2007). *Corynebacterium* spp., *Aeromonas* spp. *Bacillus* spp, *Citrobacter freundii* KS8, dan *Pseudomonas stutzeri* diketahui dapat memetilasi substrat selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) dan menghasilkan gas-gas dimetil selenida serta dimetil diselenida (Eswayah, 2016; Kagami *et al.*, 2013; Chasteen, 2003).

Nilai homologi dapat digunakan dalam penyusunan pohon filogenetik untuk mengetahui hubungan kekerabatan maupun jarak genetik isolat bakteri. Software BioEdit digunakan untuk *Alignment* dengan ClustalW dan hasilnya diinput ke dalam software MEGA 6.0. Metode yang digunakan untuk

merekonstruksi filogenetik yaitu *Neighbor-Joining Method* (Saitou & Nei, 1987). Susunan filogenetik isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 berdasarkan homologi gen *smt* ditunjukkan dalam gambar 4.4.



Gambar 4.4 Susunan filogenetik hasil *alignment* berdasarkan gen *smt* pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 dengan beberapa sekuen pembanding dari bakteri yang memiliki gen *smt* (Software MEGA 6.0).

Hubungan kekerabatan berdasarkan gen *smt* pada Gambar 4.4 yaitu isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 berada dalam satu klad yang masing-masing berjarak genetik 0.04 dengan nilai 73. Sedangkan gen *Smt* pada *Astragalus bisulcatus* diketahui masih memiliki kekerabatan dengan gen *smt* isolat IRS-1 dan IRS-2 karena berasal dari tetua (*ancestor*) yang sama dengan nilai 91. Jarak antara keduanya yaitu 0.05. *Bacillus flexus* strain KLBMP berada dalam satu klad dengan *Bacillus flexus* isolat 1-2-1. Jarak genetik antar kedua spesies ini adalah 0.56 dengan nilai 46. Spesies dari genus *Paeniabacillus* digunakan sebagai outer grup dengan tingkat kemiripan 0.000% dari isolat IRS-1 dan IRS-2. Jarak diantara keduanya yaitu 0.49, hal tersebut menunjukkan meskipun isolat IRS-1 dan IRS-2 memiliki tetua yang sama dengan spesies *Paenibacillus larvae* namun kekerabatannya sangat jauh.

Kekerabatan antar spesies dalam dalam satu tetua yang sama dapat dikatakan dekat jika berada dalam kisaran 0.00 sampai dengan 0.04 (Beaumont *et al.*, 1998). Sedangkan *bootstrap* menunjukkan nilai pengulangan pohon filogenetik. Menurut Dharmayanti (2011) *bootstrap* merupakan metode pengulangan (*resampled*) untuk menguji signifikansi pohon filogenetika. Nilai *bootstrap* lebih dari 70, menunjukkan signifikansi yang tinggi sehingga cabang-cabang dalam pohon filogenetik diprediksi dapat dipercaya

Outgroup dalam filogenetik dengan metode *distance* dapat membantu lokalisasi akar-akar percabangan sehingga berada dalam satu klas (Swofford *et al.*, 1996). Penggunaan sekuen *Paenibacillus* sebagai *outgroup* bertujuan untuk faktor koreksi penentuan ekspresi gen dari karakter spesies yang digunakan dalam *ingroup* (Madisson *et al.*, 1984). Karena jika didasarkan pada ada tidaknya gen *smt*, bakteri genus *Paenibacillus* tidak memiliki kemampuan resisten serta mengakumulasi selenium dan hal tersebut ditunjukkan juga dengan jarak genetiknya 0.53 dari grup isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2.

Gen *smt* yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada isolat bakteri IRS-1 dan IRS-2 memiliki kemiripan dengan gen *smt* pada beberapa jenis bakteri dan tanaman. Hasil isolasi ini dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi gen pada bakteri yang memiliki ekspresi berupa resisten terhadap logam selenium. Ekspresi gen ini secara langsung dapat diketahui dalam proses pertumbuhan bakteri yang berwarna merah (Zhang *et al.*, 2001) dan menunjukkan perubahan fenotip (Laishley *et al.*, 1980).

Penelitian dalam bidang molekuler membuka jalan untuk mengetahui proses-proses metabolisme seluler. Hal tersebut dapat memperluas kajian pengembangan dan meluaskan cakupan biologi sebagai ilmu pengetahuan. Allah berfirman dalam Al-Qur'an Surat Az-Zariyat ayat 47:

وَالسَّمَاءَ بَدَيْدَاهَا بِأَيْدٍ وَإِنَّا لَمُوسِعُونَ ﴿٤٧﴾ وَالْأَرْضَ فَرَشْنَاهَا فَنِعْمَ الْمَاهِدُونَ ﴿٤٨﴾ وَمِن كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ﴿٤٩﴾ فَفِرُّوا إِلَى اللَّهِ إِنِّي لَكُمْ مِنْهُ نَذِيرٌ مُّبِينٌ ﴿٥٠﴾ وَلَا تَجْعَلُوا مَعَ اللَّهِ إِلَهًا آخَرَ إِنِّي لَكُمْ مِنْهُ نَذِيرٌ مُّبِينٌ ﴿٥١﴾

Artinya: “Langit itu Kami bangun dengan kekuasaan (Kami) dan sesungguhnya Kami benar-benar meluaskannya. Dan, bumi itu kami hamparkan, maka sebaik-baik yang menghamparkan (adalah Kami). Segala sesuatu kami ciptakan berpasangan-pasangan supaya kamu akan mengingat kebesaran Allah. Maka segeralah kembali kepada (menaati) Allah”.

Penjelasan dalam Tafsir *Fi Zhilalil-Qur'an* mengenai ayat diatas yaitu, kekuasaan Allah jelas nyata. Ayat tersebut membawa kembali pada fenomena alam semesta yang berada di langit dan di bumi. Allah secara jelas berfirman bahwa langit diciptakan Allah dengan seluas-luasnya dalam artian sains hal tersebut berarti kumpulan bintang, orbitan planet, dan luasnya jagad semesta. Dalam bidang yang lebih sempit seperti halnya dalam penelitian ini, kekuasaan Allah juga nampak dalam bidang penelitian molekuler yang setiap waktu mengalami perkembangan. Gen *smt* yang diisolasi dalam penelitian ini, merupakan substansi kecil dalam bidang kehidupan namun bermakna luas dan mendalam. Manfaat dari gen *smt* adalah untuk membantu bakteri resisten terhadap logam berat sekaligus mengolah unsur toksik agar tidak meracuni organisme yang hidup di sekitarnya.

Analisis tentang gen resisten pada bakteri yang resisten terhadap logam berat merupakan upaya dari penelitian untuk mengetahui mekanisme detoksifikasi bakteri sehingga mampu bertahan dalam lingkungan yang tidak menguntungkan seperti cekaman logam berat dan mengakumulasi. Hal tersebut dapat memperdalam wawasan tentang gen yang berpotensi sebagai penyandi sifat resistensi bakteri sekaligus menjadi *problem solving* atas masalah pencemaran pada lingkungan.

Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui".

Al-Qur'an telah menyebutkan, kerusakan di bumi disebabkan oleh ulah manusia sebagai contoh seperti kasus pencemaran oleh logam berat. Masalah tersebut bertentangan dengan tugas manusia sebagai seorang khalifah di bumi yang dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqoroh ayat 30. Tugas manusia sebagai khalifah terdiri dari memakmurkan bumi (*al-imarah*), memelihara bumi (*arri'ayah*), dan melindungi bumi dalam artian merawat, memelihara alam dan lingkungan, mengelola serta memperbaiki kerusakan-kerusakan yang timbul. Allah SWT telah memberikan manusia nikmat yang luar biasa dalam kehidupan, dan sudah seharusnya manusia bersyukur dengan mengelola dan menjaga bumi sebagai amanah yang harus dijaga sebaik-baiknya agar terhindar dari kerusakan.

Alam menyediakan semua yang dibutuhkan oleh manusia. Alam dapat digunakan sebagai media pembelajaran baik secara akademik maupun spiritual, didalamnya terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah yang akan dipahami melalui ilmu pengetahuan dan sains. Dengan demikian, sesungguhnya mempelajari sains secara tidak langsung dapat menjadi sarana manusia dalam mengenal Allah serta mendalami peran manusia sebagai khalifah di bumi.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan:

1. Isolat bakteri resisten selenium koleksi Laboratorium Mikrobiologi berdasarkan hasil amplifikasi dan hasil pcr diketahui memiliki gen *smt* dengan panjang bp 118 pada isolat IRS-1 dan 124 bp isolat IRS-2.
2. Homologi gen *smt* berdasarkan hasil *alignment* pada isolat mempunyai kemiripan dengan gen *SMT* pada *Astragalus bisulcatus* sebesar 100% dan *Bacillus flexus* 96.67%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan eksplorasi gen resisten lain yang berfungsi secara langsung dalam meresistensi bakteri terhadap selenium seperti selenat reduktase (SerABC).
2. Penggunaan primer dengan kualitas yang baik dapat memberikan hasil amplicon yang lebih besar ukurannya serta hasil gen yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Mahalli, I. J., & As-Suyuthi, I. J. 2000. *Tafsir Jalalain Berikut Asbabun Nuzul* Jilid 2, terj. dari: *Tafsir Jalalain* oleh Bahrn Abu Bakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qurthubi, Syekh Imam. 2009. *Al Jami' li Ahkam Al-Qur'an*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Al-Qutbubi, S., & As'ad Yasin. 2000. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an: di Bawah Naungan Al-Qur'an*. Malang: Gema Insani Press.
- Amalia, Wafi'atun. 2017. Bioakumulasi Selenium oleh Bakteri Resisten Selenium yang Diisolasi dari Pantai Utara (Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Anguilar, F., U.R. Charrondiere, B. Dusemund, P.Gallier, Gilbert, D.M. Gott, S.Grilli, R. Guertler, G.E.N. Kass, J. Koeing, C. Lambre, J-C. Larsen, J-C. Leblanc, A. Mortensen, D. Parnt-Massin, I. Pratt, I.M.C.M Rietjens, I. Stankovic, P. Tobback, T. Verguieva & R. Woutersen. 2009. Se-Methyl-L-Selenocysteine Added as a Source of Selenium for Nutritional Purposes to Food Supplements. *The EFSA Journal*, I067: 1-23.
- Ari, Ş., Çakır, Ö. & Turgut-Kara, N. 2010. Selenium Tolerance in *Astragalus chrysochlorus*: Identification of a cDNA Fragment Encoding a Putative Selenocysteine Methyltransferase. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(6): 1085-1092.
- Arifiani, Diah. 2017. Eksplorasi Gen *smtAB* Resisten Logam Berat Timbal Pb pada Isolat Bakteri Lumpur Lapindo. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Avendaño, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J.I., & Chavarría, M. 2016. Production of Selenium Nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific reports*. 6, 37155.
- Barceloux, D.G. 1999. Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol*, 37:145-172.
- Beaumont, C., Mignon-Grasteau, S., Poivey, J. P., & De Rochambeau, H. 1998. Estimation of the Genetic Parameters of Sexual Dimorphism of Body Weight in 'Label' Chickens and Muscovy Ducks. *Genetics Selection Evolution*, 30(5), 481.
- Berrow M.L., Ure A.M., & Ihnat M. 1989. *Occurrence and Distribution of Selenium*. Florida: Boca Raton, CRC Press.
- Bird, M. L., & Challenger, F. 1942. Potassium Alkaneselenonates and Other Alkyl Derivatives of Selenium. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 113: 570-574.

- Block, E., Birringer, M., Jiang, W., Nakhodo, T., Thompson, H. J., Toscano, P. J., Uzar, H., Zhang, X., & Zhu, Z. 2001. Allium Chemistry: Synthesis, Natural Occurrence, Biological Activity, and Chemistry of Se-Alk(en)ylselenocysteines and Their C-Glutamyl Derivatives and Oxidation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 458–470.
- Blum, J.S., Bindi, A.B., Buzzelli, J., Stolz, J.F., & Oremland, R.S. 1998. *Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov., and *Bacillus selenitireducens*, sp. nov.: Two Haloalkaliphiles from Mono Lake, California that Breathe Oxyanions of Selenium and Arsenic. *Archives of microbiology*, 171(1): 19-30.
- Broadley, M.R., White P.J., Bryson R.J., Meacham M.C., Bowen H.C., Johnson S. E., Hawkesford M.J., McGrath S.P., Zhao F.J., Breward N., Harriman M., & Tucker M. 2007. Biofortification of UK Food Crops with Selenium. *Proc Nutr Soc*, 65(2): 169–181.
- Brown, T. A., & Shrift, A. 1982. Selenium: Toxicity and Tolerance in Higher Plants. *Biologica Reviews*, 57(1): 59-84.
- Budiyanto, Fitri. 2014. Siklus Selenium dan Dampaknya terhadap Lingkungan Laut. *Oseana*, 39: 55-56.
- Cai, X. J., Block, E., Uden, P. C., Zhang, X., Quimby, B. D., & Sullivan, J. J. 1995. Allium Chemistry: Identification of Selenoamino Acids in Ordinary and Selenium-enriched Garlic, Onion, and Broccoli Using Gas Chromatography with Atomic Emission Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43(7), 1754-1757
- Cakir, O., & Ari, S. 2013. Cloning and Molecular Characterization of Selenocysteine Methyltransferase (AchSMT) cDNA from *Astragalus chrysochlorus*. *Plant Omics*. 6(2), 100.
- Chasteen TG, Bentley R. 2003. Biomethylation of Selenium and Tellurium: Microorganisms and Plants. *Chem Rev* 103:1–25.
- Chasteen, T.G. 1993. Confusion Between Dimethyl Selenenyl Sulfide and Dimethyl Selenone Released by Bacteria. *Application Organomet. Chemical*. 7(5): 335-342.
- Council, N.R. 1983. *Selenium in Nutrition*: Revised ed. Washington, DC: National Academies Press.
- Da Silva, J.F, & Williams R.J.P. 2001. *The Biological Chemistry of The Elements: The Inorganic Chemistry of Life*. New York: Oxford University Press.
- Debieux, C.M., Dridge, E.J., Mueller, C.M., Splatt, P., Paszkiewicz, K., Knight, I., & Richardson, D. J. 2011. A Bacterial Process for Selenium Nanosphere Assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(33): 13480-13485.

- Desta, B., Maldonado G., Reid H., Puschner B., Maxwell J., Agasan A., Humphreys L., & Holt T. 2011. Acute Selenium Toxicosis in Polo Ponies. *J Vet Diagn Invest*, 23(3): 623–628.
- Devi, P., Jain R., Thakur A., Kumar M., Labhsetwar N.K., Nayak M, & Kumar P. 2017. A Systematic Review and Meta-analysis of Voltammetric and Optical Techniques for Inorganic Selenium Determination in Water. *TrAC Trends Anal Chem*, 95:69–8.
- Dharmayanti, N. L. P. I. 2011. Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1-10.
- Dietz, R., F. Riget & E.W. Born. 2000. An Assessment of Selenium to Mercury in Greenland Marine Mammals. *The Science of the Total Environment*, 245: 15-24.
- Dong, Y., Ganther, H. E., Stewart, C., & Ip, C. 2002. Identification of Molecular Targets Associated with Selenium-Induced Growth Inhibition in Human Breast Cells Using cDNA Microarrays. *Cancer Research*, 62(3): 708-714.
- Doran, J.W. 1982. Microorganisms and The Biological Cycling of Selenium. *Adv. Microbial Ecology*. 6: 1-32.
- Dridge, E. J., Watts, C. A., Jepson, B. J., Line, K., Santini, J. M., Richardson, D. J., & Butler, C. S. 2007. Investigation of The Redox Centres of Periplasmic Selenate Reductase from *Thauera selenatis* by EPR Spectroscopy. *Biochemical Journal*, 408(1): 19-28.
- Dumont, E. 2006. Hyphenated Techniques for Speciation of Se in Biological Matrices. *Doctoral Dissertation*. Ghent University.
- Eisler, R.S. 1985. *Selenium Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review*. US Fish Wildl Serv Biol Rep 85: 57.
- Ellis, D.R., Sors, T.G., Brunk, D.G., Albrecht, C., Orser, C., Lahner, B., & Salt, D. E. 2004. Production of Se-methylselenocysteine in Transgenic Plants Expressing Selenocysteine Methyltransferase. *BMC Plant Biology*, 4(1): 1.
- Elrashidi, M.A., Adriano D.C., & Lindsay W.L. 1989. Solubility, Speciation, and Transformations of Selenium in Soils 1. *Selenium in Agriculture and the Environment, (seleniuminagric)* : 51-63.
- EPA. 2016. *Aquatic Life Ambient Water Quality Criterion for Selenium in Freshwater 2016 – Fact Sheet*. United States Environmental Protection Agency.
- Eswayah, A. S., Smith, T. J., & Gardiner, P. H. 2016. Microbial Transformations of Selenium Species of Relevance to Bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(16): 4848-4859.
- Eswayah, Abdurrahman. 2018. Bioremediation of Selenium Species in Solution by Methanotrophic Bacteria. *Doctoral*, Sheffield Hallam University.

- Etim, E.U. 2017. Occurrence and Distribution of Arsenic, Antimony and Selenium in Shallow Groundwater Systems of Ibadan Metropolis, Southwestern Nigerian. *J Health Pollut* 7(13): 32–41.
- Fernández-Martínez, A., dan Charlet, L. 2009. Selenium Environmental Cycling and danioavailability: a structural chemist point of view. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 8(1): 81-110.
- Flury, M., Frankenberger Jr, W.T., & Jury, W.A. 1997. Long-term Depletion of Selenium from Kesterson Dewatered Sediments. *Science of the total environment*, 198(3): 259-270.
- Frankenberger Jr, W. T., dan Karlson, U. 1994. Microbial Volatilization of Selenium from Soils and Sediments. *Selenium in the Environment*, 369-387.
- Freeman, J.L., Zhang, L.H., Marcus, M.A., Fakra, S., McGrath, S.P., & Pilon-Smits, E. A. 2006. Spatial Imaging, Speciation, and Quantification of Selenium in The Hyperaccumulator Plants *Astragalus bisulcatus* and *Stanleya pinnata*. *Plant physiology*. 142(1), 124-134.
- Ganther, H.E. 1968. Selenotrisulfides. Formation by the Reaction of Thiols with Selenious Acid. *Biochemistry*, 7(8): 2898-2905.
- Gebreyessus, G.D & Feleke Z. 2019. Review Paper: A Review on Environmental Selenium Issues. *Springer Nature Applied Sciences*, 1(1): 55.
- Gordon, J. E. H. 1875. Anomalous Behaviour of Selenium. *Nature*, 12(297):187.
- Gouget B, Avoscan L, Sarret G, Collins R, & Carriere M. 2005. Resistance, Accumulation and Transformation of Selenium by The Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 After Exposure to Inorganic SeVI or SeIV.
- Griffiths, R. I., Whiteley, A. S., O'Donnell, A. G., & Bailey, M. J. 2000. Rapid Method for Coextraction of DNA and RNA from Natural Environments for Analysis of Ribosomal DNA-and rRNA-based Microbial Community Composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(12), 5488-5491.
- Grützmacher, G., Kumar P.S., Rustler M., Hannappel S., & Sauer U. 2013. Geogenic Groundwater Contamination-Definition, Occurrence and Relevance for Drinking Water Production. *Zbl Geol Paläont Teil I*, 1: 69–75.
- Gupta, M., & Gupta S. 2017. An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(2074): 1–14.
- Hamilton S. J .2004. Review of Selenium Toxicity in The Aquatic Food Chain. *Sci Total Environ*, 326: 1–31.

- Haygarth, P.M. 1994. Global Importance and Global Cycling of Selenium. *Selenium in The Environment*, 10: 1-27.
- Heider, J., & Böck, A. 1992. Targeted Insertion of Selenocysteine into The Alpha Subunit of Formate Dehydrogenase From Methanobacterium Formicum. *Journal of Bacteriology*. 174(3), 659-663.
- Herlambang, A. 2011. Pencemaran Air dan Strategi Penanggulangannya. *Jurnal Air Indonesia*, 2(1).
- Irianti, Sri. 2017. Sosialisasi PMK No. 70/2016: Tentang Standar dan Persyaratan Kesehatan Lingkungan Kerja Industri. Puslitbang Upaya Kesehatan Masyarakat. Jakarta.
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok Hatchery. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Johansson, L., Guro G., & Elias S.J.A. 2005. Selenocysteine in Proteins- Properties and Biotechnological Use. *Biochimica at Biophysica Acta*, 1726: 1-17.
- Kabata, P.A. 2000. *Trace Elements in Soil and Plants*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press.
- Kagami T, Narita T, Kuroda M, Notaguchi E, Yamashita M, Sei K, Soda S, Ike M. 2013. Effective Selenium Volatilization Under Aerobic Conditions and Recovery from The Aqueous Phase by *Pseudomonas stutzeri* NT-I. *Water Res* 47:1361–1368.
- Khan. 2016. Molecular Characterization of Metal Resistant Bacteria. *Jurnal Unpublish*.
- Kessi J., Ramuz M., Wehrli E., Spycher M., & Bachofen R. 1999. Reduction of Selenite and Detoxification of Elemental Selenium by The Phototrophic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. *Appl Environ Microbiol* 65(11): 4734–4740.
- Krafft, T., Bowen, A., Theis, F., & Macy, J. M. 2000. Cloning and Sequencing of The Genes Encoding the Periplasmic-Cytochrome B-containing Selenate Reductase of *Thauera selenatis*. *DNA Sequence*, 10(6): 365-377.
- Kryukov, G.V., Castellano S., Novoselov S.V., Lobanov A.V., Zehtab O., Guigo R., Gladyshev V.N. 2003. Characterization of Mammalian Selenoproteomes. *Science*. 300, 1439–1443.
- Laishley EJ, Harrison GI, Bryant RD, Krouse HR. 1980. *Influence of Selenium Compounds on Reduction of Sulphur Compounds and Associated Sulphur Isotope Fractions in Clostridium pasteurianum*. In: Trudinger PA, Walter MR, Ralph BJ (eds) *Biogeochemistry of ancient and modern environments*. Australian Academy of Sciences, Canberra, Australia.

- Lakin, H.W. 1973. In: Kothny E.L. (Ed.), *Trace Elements in The Environment*. Washington D.C: American Chemical Society.
- Land, M., Hauser, L., Jun, S. R., Nookaew, I., Leuze, M. R., Ahn, T. H., & Poudel, S. 2015. Insights from 20 Years of Bacterial Genome Sequencing. *Functional & Integrative Genomics*. 15(2), 141-161.
- Larsen, P.R. & Berry M.J. 1995. *Nutritional and Hormonal Regulation of Thyroid Hormone Deiodinases*. *Annu Rev Nutr* 15: 323–352.
- LeDuc, D.L., Tarun, A.S., Montes-Bayon, M., Meija, J., Malit, M.F., Wu, C.P., & Böck, A. 2004. Overexpression of Selenocysteine Methyltransferase in Arabidopsis and Indian mustard Increases Selenium Tolerance and Accumulation. *Plant Physiology*, 135(1): 377-383.
- Lemly, A.D & Smith G.J. 1987. Aquatic Cycling of Selenium: Implications For fish and Wildlife. *Washington, DC: Fish and Wildlife Leaflet 12. U.S. Fish and Wildlife Service*,
- Lewis, B.G., Johnson, C.M., & Delwiche, C.C. 1966. Release of Volatile Selenium Compounds by Plants. Collection Procedures and Preliminary Observations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 14(6): 638-640.
- Liu, H. M., Yan, Y., Shao, D. J., Li, D. L., & Zhang, Y. L. 2015. Remediation of the Contaminated Soils by Washing with an Aqueous Cysteamine Lixiviant. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 3(02): 1.
- Luoma, S.N. & P.S. Rainbow. 2008. *Metal contamination in Aquatic Environment: Science and Lateral Management*. London: Cambridge University Press.
- Lyi, S.M., L.I. Heller, M. Rutzke, R.M. Welch, L.V. Kochian, & L. Li. 2005. Molecular and Biochemical Characterization of The Selenocysteine Methyltransferase Gene and Se-Methylselenocysteine Synthesis in Broccoli. *Plant Physiology*, 138(1): 409-420.
- Lyi, S.M., Zhou, X., Kochian, L.V., & Li, L. 2007. Biochemical and Molecular Characterization of the Homocysteine S-methyltransferase from Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Phytochemistry*, 68(8): 1112-1119.
- Macy, J.M, Michel T.A., & Kirsch D.G. 1989. Selenate Reduction by Pseudomonas Species: a New Mode of Anaerobic Respiration. *FEMS Microbiol Lett*, 61: 195–198.
- Macy, J.M, Rech S., Auling G., Dorsch M., Stackebrandt E., & Sly L. 1993. *Thauera selenatis* Gen. Nov., sp. Nov., a Member of The Beta Subclass of Proteobacteria with a Novel Type of Anaerobic Respiration. *Int J Syst Bacteriol*, 43: 135–142.

- Maddison, W. P., Donoghue, M. J., & Maddison, D. R. 1984. Outgroup Analysis and Parsimony. *Systematic biology*, 33(1), 83-103.
- Maher, M. J., Santini, J., Pickering, I. J., Prince, R. C., Macy, J. M., & George, G. N. 2004. X-ray Absorption Spectroscopy of Selenate Reductase. *Inorganic chemistry*, 43(2): 402-404.
- Matthews, R. G., Smith, A. E., Zhou, Z. S., Taurog, R. E., Manggae B, V., Evans, J. C., dan Ludwig M. 2003. Cobalamin-Dependent and Cobalamin-Independent Methionine Synthases: Are There Two Solutions to the Same Chemical Problem. *Helvetica Chimica Acta*, 86(12): 3939–3954.
- Mertz W. 1981. The Essential Trace Elements. *Science*, 213(4514): 1332-1338.
- Mézes, M., & Balogh, K. 2009. Prooxidant Mechanisms of Selenium Toxicity: a Review. *Acta Biologica Szegediensis*, 53, 15-18.
- Mira, A., Ochman, H., & Moran, N. A. 2001. Deletional Bias and The Evolution of Bacterial Genomes. *Trends in Genetics*, 17(10), 589-596.
- Morrison, S.J., Goodknight C.S., Tigar A.D., Bush R.P., & Gil A. 2012. Naturally Occurring Contamination in The Mancos Shale. *Environ Sci Technol* 46(3): 1379–1387.
- Moxon, A.L. 1937. Alkali Disease, or Selenium Poisoning. *South Dakota State College Agriculture Experiment Station Bulletin 311. South Dakota State College, Brookings, SD.*
- Muller, E. G. 1994. Deoxyribonucleotides are Maintained at Normal Levels in a Yeast Thioredoxin Mutant Defective in DNA Synthesis. *Journal of Biological Chemistry*. 269(39), 24466-24471.
- Murtiyaningsih, H. 2017. Peer Review dan Similarity Artikel "Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorfic DNA)". *Disertasi*. Universitas Muhammadiyah Jember
- Neuhierl, B., & Böck, A. 1996. On the Mechanism of Selenium Tolerance in Selenium Accumulating Plants: Purification and Characterization of a Specific Selenocysteine Methyltransferase from Cultured Cells of *Astragalus bisculatus*. *European Journal of Biochemistry*, 239(1): 235-238.
- Neuhierl, B., Thanbichler, M., Lottspeich, F., & Böck, A. 1999. A Family of S Methylmethionine-dependent Thiol/Selenol Methyltransferases Role in Selenium Tolerance and Evolutionary Relation. *Journal of Biological Chemistry*, 274(9): 5407-5414.
- Nobbs, D.M., John P.B., Brett I., Carroll & Gregory M. P. 1997. An Integrated Investigation of Anthropogenic Selenium Contamination in Lake Macquarie, NSW. *Pure & Appl. Chem.*, 69(11): 2387-2401.

- Nuttall, Kern L. 2006. Review: Evaluating Selenium Poisoning. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 36(4).
- Olson, O. E. 1986. Selenium Toxicity in Animals with Emphasis on Man. *J Am Coll Toxicol*, 5(1): 45–70.
- Oremland, R.S., Herbel M.J., Blum J.S., Langley S., Beveridge T.J., Ajayan P.M., Sutto T., Ellis A.V., & Curran S. 2004. Structural and Spectral Features of Selenium Nanospheres Produced by Se-Respiring Bacteria. *Appl Environ Microbiol* 70(1): 52–60.
- Pearson, W. R. 2013. An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. *Current Protocols in Bioinformatics*, 42(1), 3-1.
- Pickering, I. J., Wright, C., Bubner, B., Ellis, D., Persans, M. W., Eileen, Y. Y., ... & Salt, D. E. 2003. Chemical Form and Distribution of Selenium and Sulfur in the Selenium Hyperaccumulator *Astragalus bisulcatus*. *Plant physiology*. 131(3), 1460-1467.
- Priadie, B.T. 2012. Bioremediasi sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 10(1): 38-48.
- Pyrzyńska, K. 2002. Determination of Selenium Species in Environmental Samples. *Microchim Acta*, 140(1): 55–62.
- Ranjard, L., Prigent-Combaret, C., Nazaret, S., & Cournoyer, B. 2002. Methylation of Inorganic and Organic Selenium by the Bacterial Thiopurine Methyltransferase. *Journal of bacteriology*, 184(11): 3146-3149.
- Ranocha, P., Bourgis, F., Ziemak, M. J., Rhodes, D., Gage, D. A., dan Hanson, A. D. 2000. Characterization and Functional Expression of cDNAs Encoding Methionine Sensitive and Insensitive Homocysteine S-methyltransferases from Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry*, 275(21): 15962-15968.
- Rayman, M.P. 2000. The Importance of Selenium to Human Health. *The lancet*, 356(9225): 233-241.
- Reamer, D.C., & Zoller, W.H. 1980. Selenium Biomethylation Products from Soil and Sewage Sludge. *Science*, 208(4443): 500-502.
- Rech, S.A., & Macy J.M. 1992. The Terminal Reductases for Selenate and Nitrate Respiration in *Thauera selenatis* are Two Distinct Enzymes. *J. Bacteriol.* 174, 7316–7320.
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Jackson, R. B. 2014. *Campbell Biology (No. s 1309)*. Boston: Pearson.
- Rosen, B. P., & Liu, Z. 2009. Transport Pathways for Arsenic and Selenium: a Minireview. *Environment international*, 35(3), 512-515.

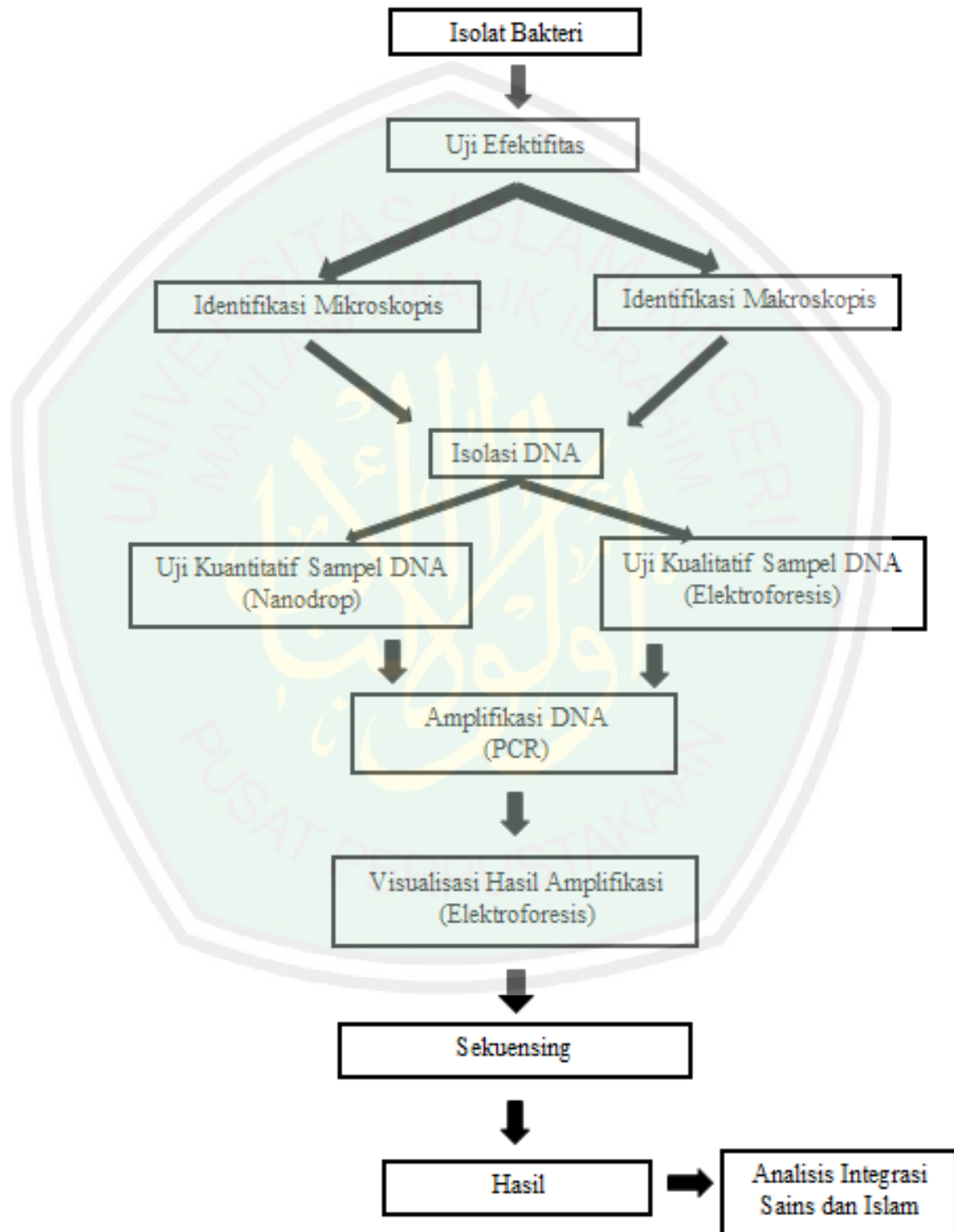
- Rother, M. 2011. *Selenium Metabolism in Prokaryotes in Selenium* (pp. 457-470). New York: Springer.
- Rotruck, J.T., Pope A.L., Ganther H.E., Hafeman D.G., & Hoekstra W.G. 1973. *Selenium Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase*. *Science* 179: 588–590.
- Rowland, R.C., Allen, D.V., Stephens, D.W., Yahnke, J.W., Darnall, N.L., & Waddell, B. 2002. Hydrologic, Sediment, and Biological Data Associated with Irrigation Drainage in The Middle Green River Basin, Utah and Colorado, Water Years 1991–2000: U.S, *Geological Survey Open File Report*, 02(343): 112.
- Safura, Magstin N. 2017. Uji Kemampuan Bakteri Resisten-Selenium dalam Mengakumulasi Selenium dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Saitou, N., & Nei, M. 1987. The Neighbor-Joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.
- Salvatore, D., Low, S. C., Berry, M., Maia, A. L., Harney, J. W., Croteau, W., ... & Larsen, P. R. 1995. Type 3 Lodothyronine Deiodinase: Cloning, in Vitro Expression, and Functional Analysis of the Placental Selenoenzyme. *The Journal of clinical investigation*, 96(5), 2421-2430.
- Schrauzer, G. N. 2000. Selenomethionine: a Review of Its Nutritional Significance, Metabolism and Toxicity. *The Journal of nutrition*, 130(7): 1653-1656.
- Schröder, I., Rech, S., Krafft, T., & Macy, J. M. 1997. Purification and Characterization of The Selenate Reductase from *Thauera selenatis*. *Journal of Biological Chemistry*, 272(38): 23765-23768.
- Shamberger, R.J. 1981. Selenium in The Environment. *Science of The Total Environment*, 17(1): 59-74.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press.
- Shrift, A. 1964. A Selenium Cycle in Nature. *Nature*, 201(4926): 1304.
- Sorenson, E.M. 1991. *Metal Poisoning in Fish*. Boca Raton, FL: Lewis Publishers.
- Sors, T.G., Martin, C.P., & Salt, D. E. 2009. Characterization of Selenocysteine Methyltransferases from *Astragalus* species with Contrasting Selenium Accumulation Capacity. *The Plant Journal*, 59(1): 110-122.

- Staicu, L.C. & Larry L. Barton. 2017. Bacterial Metabolism of Selenium for Survival or Profit. In *In Bioremediation of Selenium Contaminated Wastewater (Springer, Cham)* : 1-31.
- Stephens, D.W., & Waddell, B. 1998. Selenium Sources and Effects on Biota in The Green River Basin of Wyoming, Colorado, and Utah, in Frankenberger, W.T., Jr., and Engberg, R.A: *Environmental Chemistry of Selenium*: New York, Marcel Dekker, Inc: 183–203.
- Stephens, D.W., Waddell, Bruce, & Miller, J.B. 1988. Reconnaissance Investigation of Water Quality, Bottom Sediment, and Biota Associated with Irrigation Drainage in the Middle Green River Basin, Utah, 1986–1987: U.S. *Geological Survey Water Resources Investigations Report*, 88(4011): 70.
- Struck, A. W., Thompson, M. L., Wong, L. S., & Micklefield, J. 2012. S-Adenosyl Methionine Dependent Methyltransferases: Highly Versatile Enzymes in Biocatalysis, Biosynthesis and other Biotechnological Applications. *ChemBioChem*, 13(18), 2642-2655.
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J., & Hillis, D. M. 1996. *Molecular Systematics*.
- Syamsudin, Hamid. 2010. *Kamus Lengkap Biologi*. Jakarta: Gama Press.
- Tamura, T., & Stadtman T.C. 1996. A New Selenoprotein From Human Lung Adenocarcinoma Cells: Purification, Properties, and Thioredoxin Reductase Activity. *Proc Natl Acad Sci* 93: 1006 1011.
- Tanaka, T., Hosoi, F., Yamaguchi-Iwai, Y., Nakamura, H., Masutani, H., Ueda, S., & Yodoi, J. 2002. Thioredoxin-2 (TRX-2) is an Essential Gene Regulating Mitochondria-Dependent Apoptosis. *The EMBO Journal*, 21(7): 1695-1703.
- Thanbichler, M., Neuhierl, B., dan Böck, A. 1999. S-methylmethionine Metabolism in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 181(2): 662-665.
- Triana E., Novik N., Titin Y., Ernawati K, & Ratih M. D. 2010. Identifikasi Gen Selen Metil Transferase (*smt*) pada Isolat *Geobacillus* sp. 20k yang Resisten terhadap Selenium. *Berita Biologi*, 10: 323-328.
- Tujebajeva, R. M., Copeland, P. R., Xu, X. M., Carlson, B. A., Harney, J. W., Driscoll, D. M., ... & Berry, M. J. 2000. Decoding Apparatus for Eukaryotic Selenocysteine Insertion. *EMBO Reports*. 1(2), 158-163.
- Urbančić, D., Kotar, A., Šmid, A., Jukić, M., Gobec, S., Mårtensson, L. G., ... & Mlinarič-Raščan, I. 2019. Methylation of Selenocysteine Catalysed by Thiopurine S-Methyltransferase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1863(1), 182-190.

- Vinceti, M., Mandrioli J., Borella P., Michalke B., Tsatsakis A., & Finkelstein Y. 2014. Selenium Neurotoxicity in Humans: Bridging Laboratory and Epidemiologic Studies. *Toxicol Lett*, 230(2): 295–303.
- Vinceti, M., Wei E.T., Malagoli C., Bergomi M., & Vivoli G. 2001. Adverse Health Effects of Selenium in Humans. *Rev Environ Health*, 16(4): 233–251.
- Waluyo, Lud. 2009. Mikrobiologi Lingkungan. Malang: UMM Press.
- Wang, Y., Böck, A., & Neuhierl, B. 1999. Acquisition of Selenium Tolerance by a Selenium Non-Accumulating Astragalus Species Via-Selection. *Biofactors*, 9(1): 3-10.
- Whanger, P.D. 2002. *Selenocompounds in Plants and Animals and Their Biological Significance*. J Am Coll Nutr 21: 223–232
- WHO. 1971. *International Standards for Drinking-water*, Third edition.
- Winkel, L.H., Johnson, C.A., Lenz, M., Grundl, T., Leupin, O.X., Amini, M., & Charlet, L. 2011. Environmental Selenium Research: From Microscopic Processes to Global Understanding. *Environ. Sci. Technol*, 46 (2): 571-579.
- Yajid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri Hasi Isolasi sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium di Lingkungan. Jurnal Prosiding PPI. ISSN 0216-3128.
- Ylaranta, T. 1982. Volatilization and Leaching of Selenium Added to Soils. *Ann. Agric. Femr.* 21: 103-114.
- Zhang, J. S., Gao, X. Y., Zhang, L. D., & Bao, Y. P. 2001. Biological Effects of a Nano Red Elemental Selenium. *Biofactors*, 15(1), 27-38.
- Zhang, L.H., Abdel-Ghany, S.E., Freeman, J.L., Ackley, A.R., Schiavon, M., & Pilon-Smits, E.A. 2006. Investigation of Selenium Tolerance Mechanisms in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*. 128(2), 212-223.
- Zhu, L., Jiang, C. J., Deng, W. W., Gao X., Wang, R. J., & Wan, X. C. 2008. Cloning and Expression of Selenocysteine Methyltransferase cDNA from *Camellia sinensis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(2), 167-174.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. DESAIN PENELITIAN



LAMPIRAN 2. Pembuatan Stok Larutan Sodium Selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) 100 mM dalam 100 mL

1. Pembuatan Stok Larutan Sodium Selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) 100 mM dalam 100 mL

Massa atom relatif sodium selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) adalah 173 g/L.

$$1 \text{ M} = 1000 \text{ mM} \sim 173 \text{ g/L}$$

$$100 \text{ mM} = \frac{1000}{100} = 10 \sim \frac{173 \text{ g/L}}{10} = 17.3 \text{ g/L}$$

$$1 \text{ L} = 1000 \text{ mL} = \underline{17300 \text{ mg}} = 17.3 \text{ g/L}$$

$$1000 \text{ mL}$$

$$100 \text{ mL} = \frac{17.3 \text{ g/L}}{10} = 1.73 \text{ g/L}$$

$$10$$

Jadi, cara untuk membuat larutan stok sodium selenit ($\text{Na}_2\text{SeO}_3^{2-}$) 100 mM sebanyak 100 mL adalah dengan menimbang serbuk sodium selenit 173 gr kemudian dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 100 mL.

2. Pembuatan Media Perlakuan Sodium Selenit

Setiap cawan petri diisi oleh media kultur bakteri sebanyak 20 mL dengan konsentrasi sodium selenit 10 mM. Untuk mendapatkan komposisi yang sesuai dilakukan dengan pengenceran. Rumus pengenceran yaitu:

$$M1.V1 = M2.V2$$

Keterangan: M1 = konsentrasi larutan stok sodium selenit.

M2 = konsentrasi larutan yang diperlukan,

V1 = jumlah volume larutan yang diambil dari stok.

V2 = jumlah volume total media yang digunakan.

$$M1.V1 = M2.V2$$


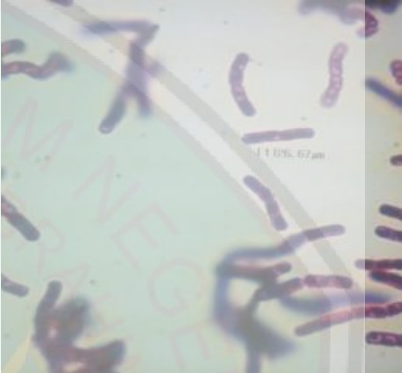
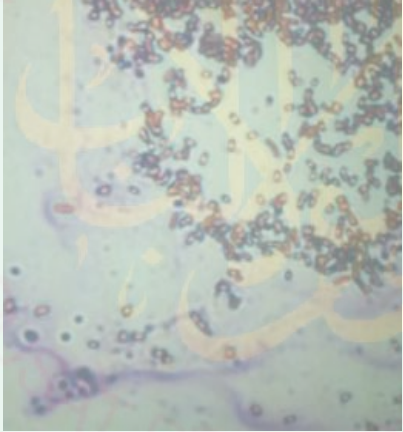
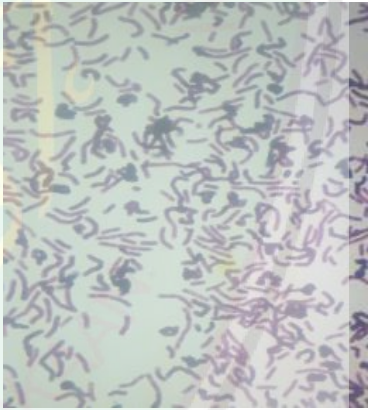
$$100.V1 = 10.20$$

$$V1 = \frac{200}{100} = 2 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat media pertumbuhan bakteri dibutuhkan 2 mL larutan sodium selenit 100 mM kemudian ditambahkan media sebanyak 18 mL sehingga volume total mencapai 20 mL dalam setiap cawan petri.

LAMPIRAN 3. IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI RESISTEN SELENIUM

1. Tabel Identifikasi Mikroskopis

NAMA ISOLAT	GAMBAR HASIL PENGAMATAN	
	PERBESARAN 400 x	PERBESARAN 1000 x
IRS-1		
IRS-2		

LAMPIRAN 3

2. Tabel Identifikasi Makroskopis

a. Isolat Bakteri IRS-1



b. Isolat Bakteri IRS-2



LAMPIRAN 4. DOKUMENTASI PROSES ISOLASI DNA

1. Subkultur Bakteri dalam Media Cair Luria Bertani (LB)



2. Preparasi Bahan

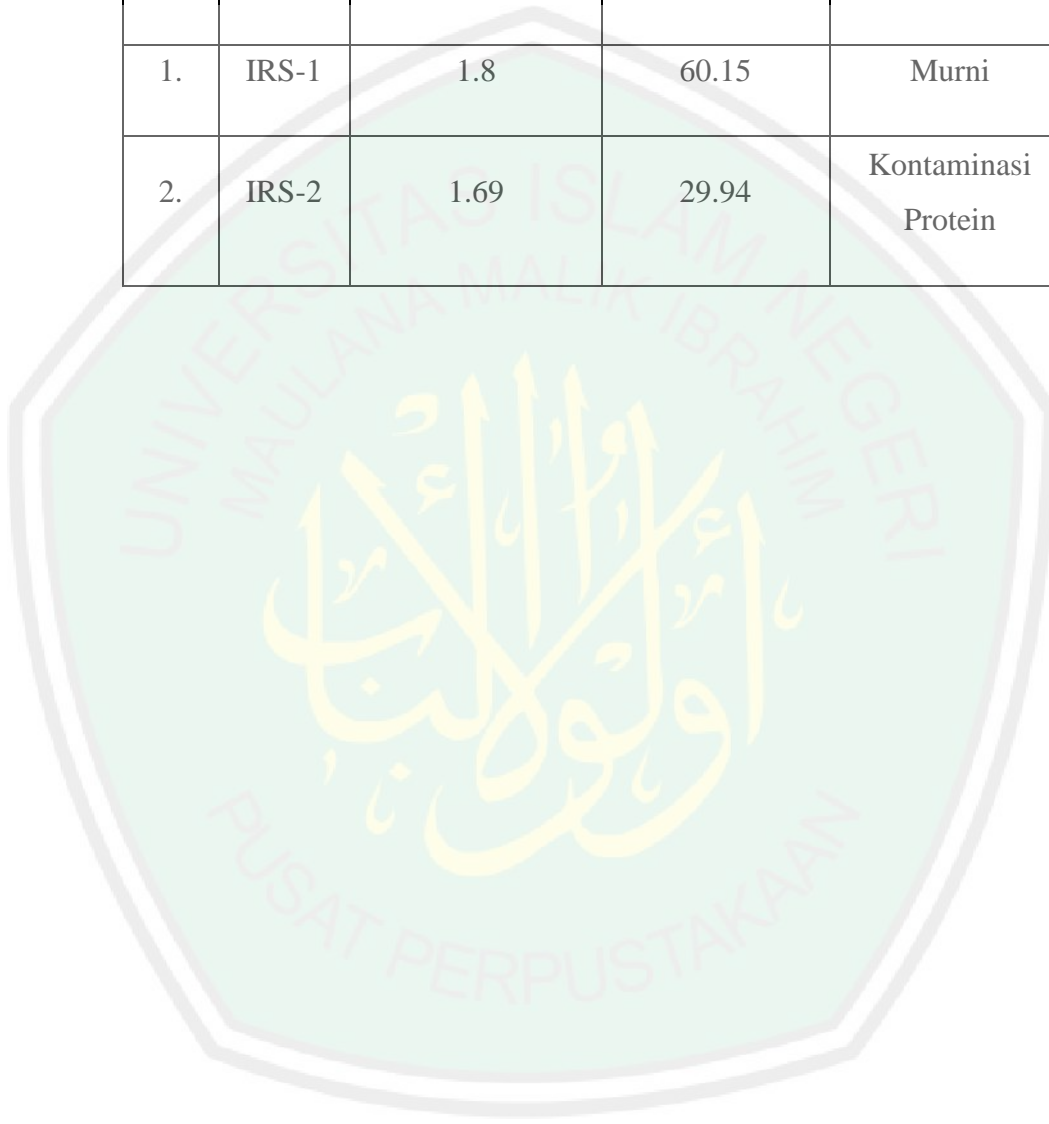


3. Proses Isolasi DNA



4. Tabel Uji Kuantitatif Konsentrasi dan Kemurnian DNA Genom Isolat Bakteri IRS-1 dan IRS-2

No.	Nama Isolat	Kemurnian ($\text{Å}260/\text{Å}280$)	Konsentrasi ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Kesimpulan
1.	IRS-1	1.8	60.15	Murni
2.	IRS-2	1.69	29.94	Kontaminasi Protein



LAMPIRAN 5. HASIL SEKUENSING GEN *smt*

1. Hasil sekuensing gen *smt* isolat IRS-1

>IRS-1-*smt*-F

CTACCTCCAAGGAGTGATCATTGAATGCTGGCACTAATATCAGGGG
TTGCGCTAATTGCCGGATCAGTATGGAGCGTCTGTAGTGGTGA
CTTAATTGCGGGATCAGTAGGGAAG

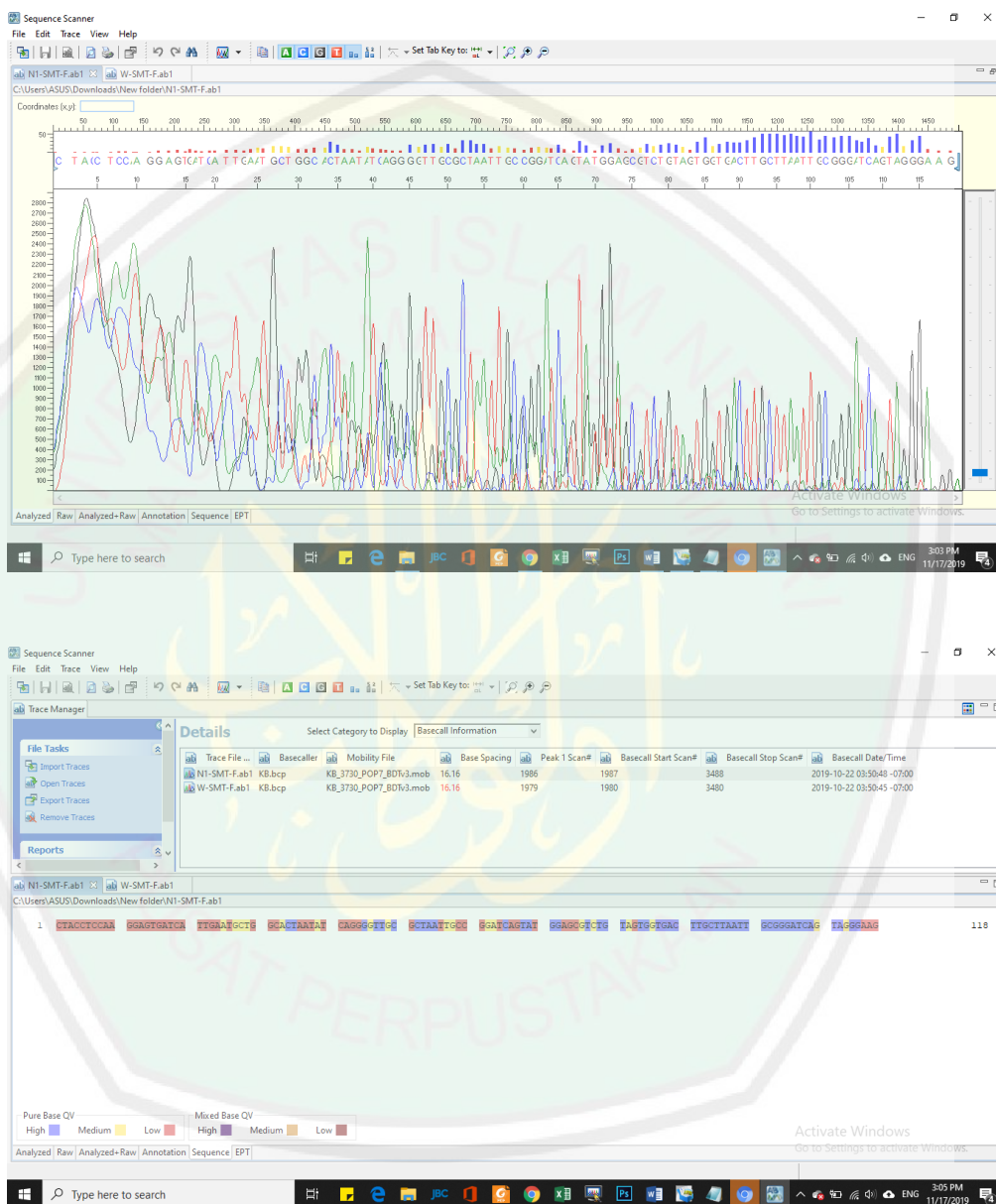
2. Hasil Sekuensing gen *smt* isolat IRS-2

>IRS-2-*smt*-F

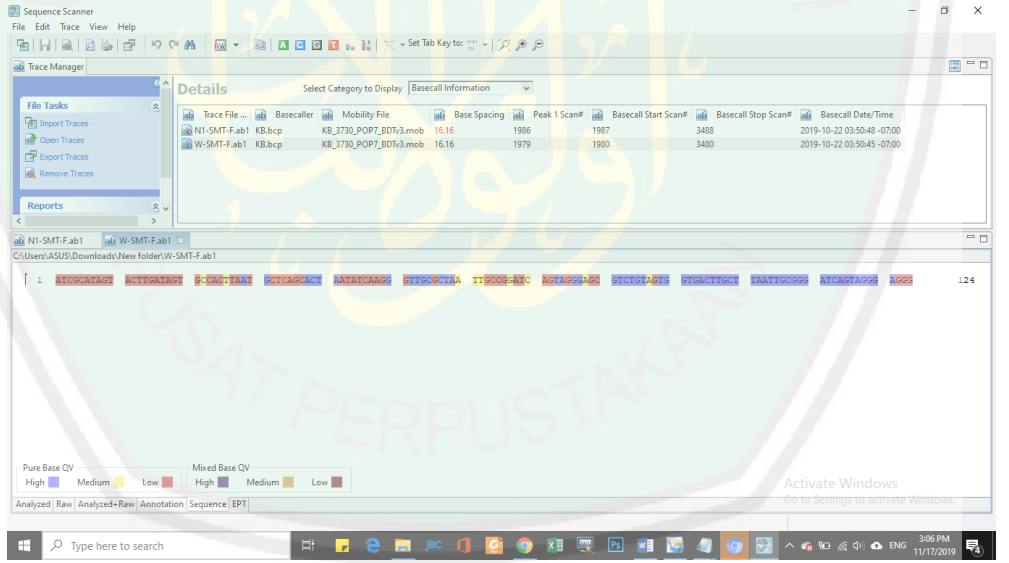
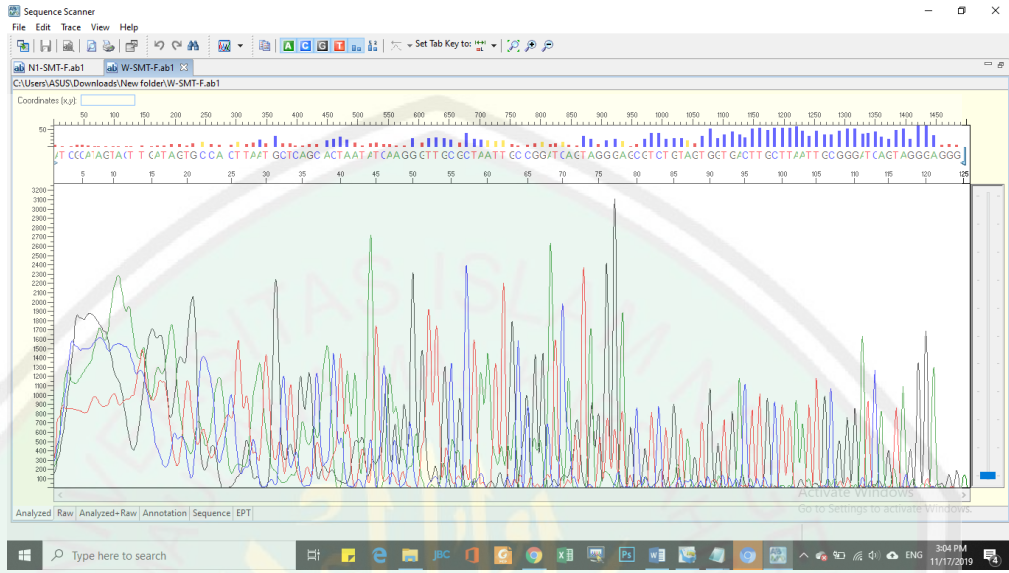
ATCGCATAGTACTTGATAGTGCCACTTAATGCTCAGCACTAATATCA
AGGGTTGCGCTAATTGCCGGATCAGTAGGGAGCGTCTGTAGTGGTG
ACTTGCTTAATTGCGGGATCAGTAGGGAGGG

LAMPIRAN 6. ANALISIS HASIL SEKUENSING GEN *smt*

1. Analisis Hasil Sequensing Isolat Bakteri IRS-1 dengan Software Sequence Scanner



2. Analisis Hasil Sequencing Isolat Bakteri IRS-2 dengan Software Sequence Scanner



3. Hasil Blast Isolat IRS-1

Sequences producing significant alignments

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Accession
Bacillus flexus isolate 1-2-1 chromosome, complete genome	50.9	50.9	37%	0.011	96.67%	CP040367.1
Bacillus flexus strain KLBMP 4941, complete genome	50.9	50.9	37%	0.011	96.67%	CP016790.1
Leishmania braziliensis MHOM/BR/75/M2904 genome assembly, chromosome_4	41.9	41.9	45%	5.5	86.49%	LS997603.1
Leishmania braziliensis MHOM/BR/75/M2904 complete genome, chromosome_4	41.9	41.9	45%	5.5	86.49%	FR798978.1
Astragalus chrysochlorus selenocysteine methyltransferase (SMTA) mRNA, complete cds	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	GQ844862.2
Astragalus leptocarpus selenocysteine methyltransferase (SMT) mRNA, complete cds	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	GQ398505.1
Astragalus drummondii selenocysteine methyltransferase-like protein (SMT) mRNA, complete cds	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	GQ398504.1
Astragalus ceramicus selenocysteine methyltransferase (SMT) mRNA, complete cds	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	GQ398503.1
Astragalus racemosus selenocysteine methyltransferase (SMT) mRNA, complete cds	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	GQ398501.1
Astragalus bisulcatus mRNA for selenocysteine methyltransferase	41.0	41.0	27%	5.5	100.00%	AJ131433.1

4. Alignment berdasarkan BLAST-NCBI

10 sequences selected

Bacillus flexus isolate 1-2-1 chromosome, complete genome
 Sequence ID: [CP040367.1](#) Length: 3892082 Number of Matches: 1

Range 1: 1481347 to 1481376

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
50.9 bits(55)	0.010	29/30(97%)	0/30(0%)	Plus/Plus

Query 36 GCGTCTGTAGTGGTGACTTGCTTAATTGCG 65
 Sbjct 1481347 GCGTCTGTAGTGGTGACTTGCTTAATTGCG 1481376

Bacillus flexus strain KLBMP 4941, complete genome
 Sequence ID: [CP016790.1](#) Length: 3960308 Number of Matches: 1

Range 1: 1712129 to 1712158

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
50.9 bits(55)	0.010	29/30(97%)	0/30(0%)	Plus/Plus

Query 36 GCGTCTGTAGTGGTGACTTGCTTAATTGCG 65
 Sbjct 1712129 GCGTCTGTAGTGGTGACTTGCTTAATTGCG 1712158

5. Hasil Multiple Alignment dengan Software BioEdit



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Devi Vitriana Lestari
NIM : 15620089
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Romaidi, M.Si., D.Sc
Judul Skripsi : Deteksi Gen Selenometil Transferase (*smt*) pada Isolat Bakteri Resisten Selenium

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-01-2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	14-01-2019	Revisi judul skripsi	2.
3.	15-03-2019	Konsultasi BAB I dan III	3.
4.	13-03-2019	Konsultasi BAB II	4.
5.	04-02-2019	Revisi BAB I II dan III	5.
6.	15-04-2019	ACC Proposal	6.
7.	24-10-2019	Konsultasi BAB IV	7.
8.	03-11-2019	Revisi BAB IV	8.
9.	05-11-2019	Konsultasi BAB IV V dan Daftar Pustaka	9.
10.	28-10-2019	Konsultasi analisis data dan lampiran	10.
11.	07-11-2019	ACC Skripsi	11.

Malang, 16 Desember 2019

Pembimbing Skripsi,

Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Devi Vitriana Lestari
NIM : 15620089
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Deteksi Gen Selenometil Transferase (*smt*) pada Isolat Bakteri Resisten Selenium

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-04-2019	Konsultasi BAB I, II,	1.
2.	12-04-2019	ACC BAB I dan II	2.
3.	30-09-2019	Konsultasi BAB IV	3.
4.	07-10-2019	ACC Skripsi	4.

Malang, 16 Desember 2019

Pembimbing Agama Skripsi,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409

Ketua Jurusan,



Romaidi M. Si., D.Sc

NIPT. 19810201 200901 1 019