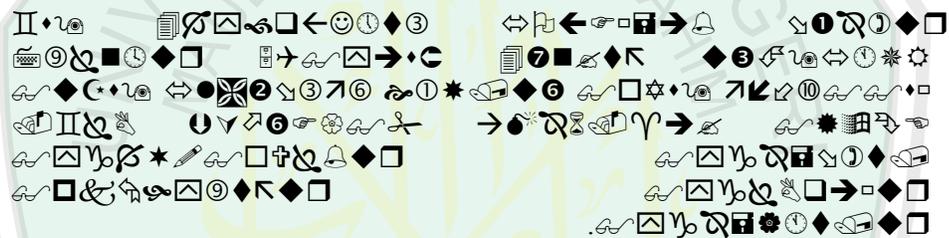


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kentang

Dunia tumbuh-tumbuhan ciptaan Allah swt. tidak hanya penuh dengan buah-buahan saja, tetapi juga dilengkapi dengan beraneka ragam jenis tanaman seperti pohon, bunga, sayur mayur, rempah-rempah dan lain-lain. Firman Allah swt. (Rahman, 2000):



“Dan (ingatlah), ketika kamu berkata: "Hai Musa, Kami tidak bisa sabar (tahan) dengan satu macam makanan saja. sebab itu mohonkanlah untuk Kami kepada Tuhanmu, agar Dia mengeluarkan bagi Kami dari apa yang ditumbuhkan bumi Yaitu sayur-mayurnya, ketimunnya, bawang putihnya, kacang adasnya, dan bawang merahnya", (Qs. al-Baqarah (2): 61).

Potongan ayat di atas menjelaskan tentang keanekaragaman tumbuhan ciptaan Allah swt., berbagai macam tumbuhan yang disebutkan adalah *sayur-mayur, ketimun, bawang putih, kacang adas, dan bawang merah*. Salah satu jenis tanaman sayur-sayuran ciptaan Allah swt. adalah tanaman kentang yang memiliki kandungan protein cukup tinggi dibandingkan biji sereal dan umbi lainnya (Nurmayulis, 2005).

Kentang termasuk tanaman yang dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Ewing dan Keller, 1982), dapat tumbuh pada ketinggian 500 sampai

3000 m di atas permukaan laut, dan yang terbaik pada ketinggian 1300 m di atas permukaan laut. Tanaman kentang dapat tumbuh baik pada tanah yang subur, mempunyai drainase yang baik, tanah liat yang gembur, debu atau debu berpasir. Tanaman kentang toleran terhadap pH pada selang yang cukup luas, yaitu 4,5 sampai 8, tetapi untuk pertumbuhan yang baik dan ketersediaan unsur hara, pH yang baik adalah 5 sampai 6,5. Pertumbuhan tanaman kentang sangat dipengaruhi oleh keadaan cuaca. Tanaman kentang tumbuh baik pada lingkungan dengan suhu rendah, yaitu 15 sampai 20°C, cukup sinar matahari, dan kelembaban udara 80 sampai 90 % (Sunarjono, 1975).

Tanaman kentang berasal dari Amerika Selatan (Peru, Chili, Bolivia, dan Argentina) serta beberapa daerah Amerika Tengah. Di Eropa daratan tanaman itu diperkirakan pertama kali diintroduksi dari Peru dan Colombia melalui Spanyol pada tahun 1570 dan di Inggris pada tahun 1590 (Hawkes, 1990). Penyebaran kentang ke Asia (India, Cina, dan Jepang), sebagian ke Afrika, dan kepulauan Hindia Barat dilakukan oleh orang-orang Inggris pada akhir abad ke-17 dan di daerah-daerah tersebut kentang ditanam secara luas pada pertengahan abad ke-18 (Hawkes, 1992).

Menurut Permadi (1989), saat masuknya tanaman kentang di Indonesia tidak diketahui dengan pasti, tetapi pada tahun 1794 tanaman kentang ditemukan telah ditanam di sekitar Cisarua (Kabupaten Bandung) dan pada tahun 1811 tanaman kentang telah tersebar luas di Indonesia, terutama di daerah-daerah pegunungan di Aceh, Tanah Karo, Sumatera Barat, Bengkulu, Sumatera Selatan, Minahasa, Bali, dan Flores. Di Jawa daerah-daerah pertanaman kentang berpusat

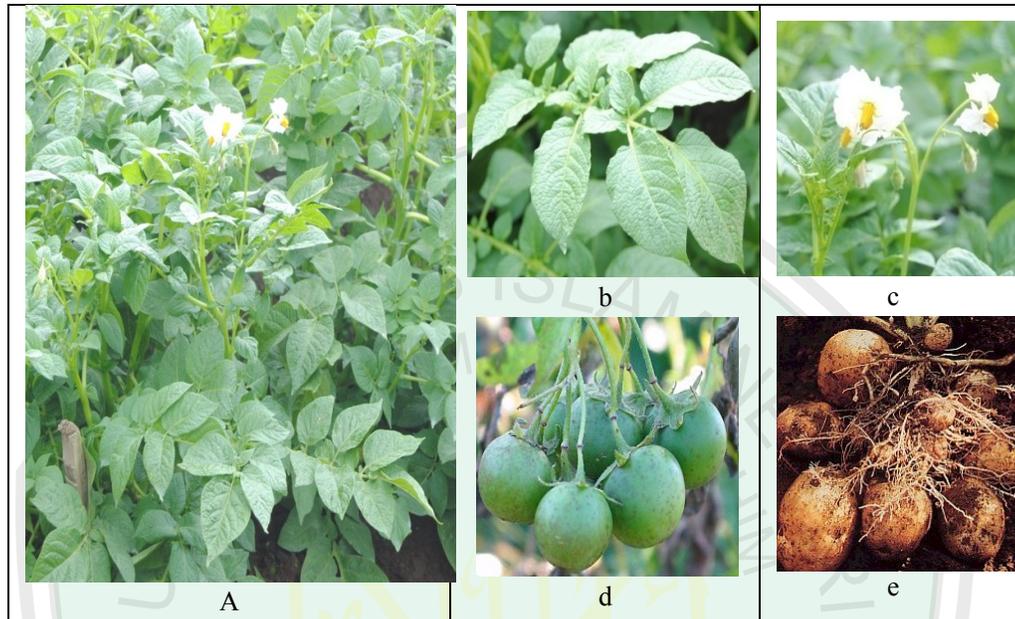
di Pangalengan, Lembang, dan Pacet (Jawa Barat), Wonosobo dan Tawangmangu (Jawa Tengah), serta Batu dan Tengger (Jawa Timur).

Kentang merupakan tanaman semusim yang bersifat menyemak dan menjalar. Batang berbentuk segi empat, panjang bisa mencapai 50-120 cm dan tidak berkayu (tidak keras bila dipijat). Namun batang bawah yang tua bisa berkayu. Batang dan daun berwarna hijau kemerah-merahan atau keungu-unguan. Tanaman yang berasal dari biji akan menghasilkan satu batang utama. Sedangkan yang berasal dari umbi akan menghasilkan lebih dari satu batang tanaman (Setiadi, 2008).

Allah swt. berfirman dalam surat al-An'am (6): 141, yaitu

“dan Dialah yang menjadikan kebun-kebum yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya)”, (Qs. al-An'am (6): 141).

Potongan ayat di atas menyebutkan bahwa Allah swt. telah menciptakan “kebun-kebum yang tak berjunjung” dapat dimaknai sebagai kebun-kebum yang memiliki beberapa tanaman semak atau herba. Kentang merupakan tanaman dikotil semusim, berbentuk semak atau herba dengan filotaksis. Tanaman ini umumnya ditanam dari umbi. Morfologi tanaman kentang secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 2.1.a



Gambar 2. Hasil dokumentasi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) (a) Morfologi Tanaman Kentang, (b) Daun, (c) Bunga, (d) Buah, (e) Umbi dan Akar tanaman kentang (Setiadi, 2008).

Tanaman kentang memiliki sistem perakaran tunggang dan serabut. Akar tunggang bisa menembus sampai kedalaman 45 cm. Akar serabut tumbuh menyebar (menjalar) ke samping dan menembus tanah dangkal. Akar berwarna keputih-putihan, halus dan berukuran kecil. Akar-akar ini ada akar yang akan berubah bentuk dan fungsinya menjadi bakal umbi (stolon) dan akhirnya menjadi umbi (Setiadi, 2008). Dokumentasi dari akar tanaman kentang dapat dilihat pada gambar 2.1.e

Daun-daun pertama berupa daun tunggal, daun berikutnya berupa daun majemuk *imparipinnate* dengan anak daun primer dan anak daun sekunder. Posisi tangkai daun utama terhadap batang bervariasi. Pada tangkai daun utama terletak

helaian anak daun primer dan sekunder yang berbeda-beda dalam bentuk, ukuran dan warna. Gambar daun tanaman kentang dapat dilihat pada gambar 2.1.b. Pada dasarnya, daun majemuk kentang mempunyai tunas ketiak yang dapat berkembang menjadi cabang sekunder dengan system percabangan simpodial (Setiadi, 2008).

Bunga berjenis kelamin dua (bunga sempurna), ukurannya kecil (kira-kira 3 cm), berwarna putih kekuning-kuningan, atau ungu kemerah-merahan, tumbuh di ketiak daun teratas dapat dilihat pada gambar 2.1.c. Daun kelopak (*calyx*), daun mahkota (*corolla*), dan benang sari (*stamen*), masing-masing berjumlah lima buah dengan satu buah putik (*pistillus*) yang mempunyai sebuah bakal buah yang berongga dua buah (*locule*). Daun mahkota berbentuk terompel yang ada ujungnya berbentuk bintang (Setiadi, 2008).

Benang sari bunga kentang berwarna kekuning-kuningan dan melingkari tangkai putih. Kedudukan kepala putik bisa lebih rendah, sama tinggi, atau lebih tinggi dari *cone* kepala sari. Kepala sari dari kelima benang sari membentuk satu *cone* yang berwarna kuning terang (pada bunga yang jantan mandul warnanya kuning hijau). Kepala sari ini berisi tepung sari bila sudah kering bisa diterbangkan oleh angin. Biasanya tepung sari masak lebih dulu dari pada kepala putiknya (Setiadi, 2008).

Satu minggu setelah penyerbukan, bakal buah membesar dan berkembang menjadi buah. Buah berwarna hijau tua sampai keungu-unguan, berbentuk bulat, berukuran kira-kira 2,5 cm, dan berongga dua. Gambar buah dari tanaman kentang dapat dilihat pada gambar 2.1.d. Buah mengandung 500 bakal biji yang nantinya

menjadi biji hanya 10-300 biji. Buah bisa dipanen pada umur 6-8 minggu setelah penyerbukan (Setiadi, 2008).

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Gembong (1994), kentang (*Solanum tuberosum* L.)

diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
 Subdivisio : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae (Berkeping dua)
 Ordo : Tubiflorae (Solanales, Personatae) (Berumbi)
 Familia : Solanaceae (berbunga terompet)
 Genus : *Solanum* (daun mahkota berletak satu sama lain)
 Spesies : *Solanum tuberosum* L.

2.1.2 Varietas Kentang

Varietas granola memiliki bentuk umbi kentang yang lonjong (meruncing kearah ujung umbi). Kulit dan daging umbi berwarna kuning, disebut dengan kentang kuning. Kentang kuning Granola merupakan varietas kentang yang paling digemari. Granola memiliki rasa yang enak, guruh dan gempi. Jenis ini merupakan varietas unggul karena produktifitasnya bisa mencapai 30-35 ton perhektar. Berdasarkan pengalaman dilapangan, dari 30-35 ton yang dipanen sekitar 75-85% (22-29 ton) dipanen sebagai kentang sayur/ konsumsi dan 16-25% (4-8 ton) untuk bibit yang akan ditanam sendiri pada musing berikutnya. Selain keunggulan itu, granola juga tahan terhadap penyakit kentang umumnya. Umur panen normal adalah 90 hari (Setiadi, 2008).

2.2 Bakteri Endofit pada Akar

Endofit (*endophyte*) adalah mikrobial yang berupa jamur maupun bakteri. Endofit ini hidup di intraseluler jaringan tanaman dengan membentuk koloni tetapi tidak merugikan inangnya. Hampir semua tanaman vaskular memiliki endofit. Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar atau bagian lain dari tanaman (Yunus *et al.*, 1999).

Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikrobial endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, yang diduga sebagai akibat terjadinya transfer gen dari tanaman ke endofit. Kemampuan endofit memproduksi metabolit sekunder merupakan peluang penelitian yang besar untuk memproduksi metabolit sekunder (Tan & Zou *et al.*, 2001).

Berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya, dan telah berhasil dibiakkan dalam media pertumbuhan yang sesuai. Demikian pula metabolit sekunder yang diproduksi oleh endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta diketahui struktur molekulernya. Bakteri endofit memiliki banyak manfaat diantaranya dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan memproduksi fitohormon, meningkatkan produksi penyerapan mineral, fiksasi Nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit (Suriaman, 2010).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman tanpa merusak jaringan tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman

bagian dalam. Bakteri menembus jaringan tanaman di akar, stomata atau pada bagian tanaman yang luka. Bakteri endofit Gram positif dan Gram negatif telah banyak diisolasi dari beberapa jaringan tanaman. Endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar dan bagian tanaman lain yang terpapar udara luar seperti bunga, batang, dan kotiledon dapat juga dilalui. Secara khusus, bakteri masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata, maupun jaringan yang rusak (Zinniel *et al.*, 2002).

Menurut Hallman *et al.* (1999), telah diketahui pula bahwa bakteri endofit dapat berpengaruh pada kesehatan tanaman dalam hal: (1) antagonisme langsung atau penguasaan niche atas patogen, (2) menginduksi ketahanan sistemik dan (3) meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan. Karena sifat-sifat tersebut bakteri endofit telah terbukti dapat dimanfaatkan sebagai pengendali hayati penyakit tanaman bahkan dapat mengurangi serangan hama tanaman.

Beberapa ahli telah mengisolasi dan meneliti endofit dari berbagai tanaman diantaranya tanaman obat (Tan & Zhou, 2001), tanaman perkebunan (Zinniel *et al.*, 2002), dan tanaman-tanaman hutan. Sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri dan fungi (Strobel & Daisy, 2003). Bakteri atau fungi tersebut dapat menghasilkan senyawa metabolit yang dapat berfungsi sebagai antibiotika (antifungi/ antibakteri), antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antioksidan, antiimmunosupresif (Strobel & Daisy, 2003), dan penghasil enzim-enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase (Choi *et al.*, 2005), dan kitinase (Zinniel *et al.*, 2002). Manfaat dari

endofit lainnya juga dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh IAA (Indol Acetic Acid) dan berperan juga dalam fiksasi nitrogen (N_2) pada beberapa tanaman (Tan & Zhou, 2001).

Menurut Brimecombe *et al.* (2001), kolonisasi akar oleh bakteri terdiri dari empat tahap, yaitu: pergerakan bakteri menuju permukaan akar tanaman secara aktif (induksi spesifik terhadap aktifitas flagella secara kemotaksis), penempelan pada akar, pelekatan (menempel lebih kuat) dan induksi ekspresi gen.

Akar tanaman melepaskan berbagai jenis senyawa ke dalam lingkungan tanah termasuk etilen, gula, asam amino, asam organik, vitamin, polisakarida dan enzim. Senyawa-senyawa ini menciptakan lingkungan yang unik untuk kehidupan mikroorganisme yang ada hubungannya dengan akar tanaman di daerah rizosfir (Garbeva *et al.*, 2004).

Bakteri akan bereaksi berbeda terhadap senyawa yang dilepaskan oleh akar tanaman, sehingga komposisi yang berbeda dari eksudat akar diharapkan akan menyeleksi komunitas rizosfir yang berbeda pula. Sebaliknya, bakteri rizosfir juga dipengaruhi oleh tanaman sebagaimana berbagai jenis bakteri di daerah rizosfir dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui sinyal kimia seperti auksin, giberellin, glikolipid dan sitokinin. Genus seperti *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Variovarax*, *Phyllobacterium* dan *Azospirillum* adalah merupakan kelompok bakteri yang paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Bacteria*). Komposisi dari eksudat akar ini sangat dipengaruhi oleh tahap perkembangan tanaman, yang pada akhirnya akan mempengaruhi komunitas di daerah rizosfir terhadap waktu (Yang *et al.*, 2000).

2.3 Karakterisasi Molekuler

Berdasarkan hadist shahih Muslim yang menjelaskan tentang kemiripan gen pada diri setiap makhluk hidup, yaitu sebagai berikut:

عَنْ عَائِشَةَ أَنَّ امْرَأَةً قَالَتْ لِرَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ هَلْ تَغْتَسِلُ الْمَرْأَةُ إِذَا احْتَلَمَتْ وَأَبْصَرَتْ الْمَاءَ فَقَالَ نَعَمْ فَقَالَتْ لَهَا عَائِشَةُ تَرِيثُ يَدَاكَ وَأَلْتِ قَالَتْ فَقَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ دَعِمَهَا وَهَلْ يَكُونُ الشَّبَهُ إِلَّا مِنْ قَبْلِ ذَلِكَ إِذَا عَلَا مَاؤُهَا مَاءَ الرَّجُلِ أَشْبَهَ الْوَلَدُ أَحْوَالَهُ وَإِذَا عَلَا مَاءَ الرَّجُلِ مَاءَهَا أَشْبَهَ أَعْمَامَهُ رواه مسلم: ٤٧٢

Dari Aisyah, ia berkata: seorang wanita berkata kepada Rasulullah Saw., “Apakah seorang wanita harus mandi apabila bermimpi dan melihat air mani?” Beliau menjawab, “Ya.” Maka Aisyah berkata kepadanya, “Serius kamu akan bertanya?” aisyah berkata, “Maka Rasulullah Saw. bersabda, “Biarkanlah dia (bertanya). Tidaklah kemiripan gen terjadi melainkan dari sisi tersebut. Apabila air mani wanita tersebut mengalahkan air mani suaminya maka anaknya mirip dengan garis keturunan ibunya. Dan apabila air mani suaminya mengalahkan air maninya maka anaknya mirip dengan garis keturunan bapaknya”, (HR. Muslim, 472).

Hadits di atas menjelaskan bahwa Allah swt. menciptakan tubuh manusia dengan sempurna. Tubuh manusia berawal dari satu sel hasil perkawinan bapak dan ibu. Sel awal ini memuat *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang berpadu dengan gen. DNA adalah program kehidupan yang menentukan tubuh baik bentuk ataupun dan sifatnya. Aktivasi program dilakukan oleh *Ribonucleic acid* (RNA) suatu program aplikasi yang dibuat oleh DNA. Dengan adanya RNA, sel awal akan membelah dan belahannya akan dilengkapi dengan kopian DNA. DNA adalah program kehidupan yang ditulis oleh malaikat di sel mani yang tercampur. sel mani baru aktif sesudah memecah diri membentuk RNA suatu program aplikasi. Allah swt. lebih mengetahui peniupan roh yang memacu pembentukan

RNA. Aktivasi itulah yang membuat kopian DNA sel awal dan mengirimkannya keseluruh tubuh (Azwar, 2011).

Hadits di atas juga menjelaskan bahwa makhluk hidup baru dapat memiliki kemiripan karakter dengan para pendahulunya dan juga ada perbedaan dalam beberapa segi karakter lainnya. Allah swt. menciptakan keanekaragaman karakteristik DNA antara kedua induk dan anak yang semakin memperkaya khazanah hidup dan menjadikannya lebih hidup. Keragaman ini juga membuktikan absolutitas kekuasaan Allah swt. yang telah mendesain sedemikian rupa proses yang terjadi di dalam zygot sehingga tercipta tumbuhan, hewan, manusia sebagai makhluk hidup baru yang mirip dengan pendahulunya (Azwar, 2011).

Karakter-karakter genetik (turunan) dapat mengalami mutasi/ perpindahan dari induk ke anak pada organisme yang berkembang biak (reproduksi) seperti tumbuhan dengan mekanisme perkawinan (penyerbukan) melalui sejumlah faktor yang sangat kecil ukurannya yang lebih lanjut dikenal dengan istilah “gen” yang kedua induk tanaman saling berbagi dan memberikannya pada zygot. Gen digunakan sebagai symbol untuk menjelaskan proses keragaman pada makhluk hidup. Gen berada di dalam inti sel hidup antara sel-sel yang berkembangbiak. suatu sel hidup terbentuk dari adanya pertemuan sel induk jantan dan betina. Masing-masing sel induk memiliki separuh jumlah kromosom jenis tertentu yang akan sempurna jumlahnya seiring dengan pertemuan kedua sel induk tersebut. Melalui kromosom dapat diketahui bahwa ia terbentuk dari kumpulan-kumpulan

asam deoksiribo nukleat (DNA) dan protein yang persentasenya hampir sama (Pelczar, 2008).

Isolasi dan karakterisasi koloni bakteri endofit dari tanaman agronomi dan tanaman padang rumput di daerah Nebraska, Amerika telah dilakukan oleh Zinniel dkk., (2002). Identifikasi taksonominya dilakukan dengan analisa biokimia dan analisa terhadap sekuen 16S rDNA. Karakterisasi molekuler dilakukan menggunakan teknik PCR-RFLP 16S rDNA. Karakterisasi dari 35 isolat bakteri endofit yang diperoleh dilakukan dengan mengamplifikasi gen 16S rDNA kemudian dilakukan analisis restriksi menggunakan enzim restriksi *HaeIII*, *Mbol* dan *MspI*. Terdapat 2 kluster utama dengan koefisien kesamaan 48% dan 43% dan isolat yang berbeda kluster (Zinniel dkk., 2002).

Elavazhagan dkk. (2009), telah melakukan isolasi bakteri endofit dari tanaman *Mikania micrantha* dan melakukan karakterisasi molekulernya menggunakan teknik PCR-RAPD terhadap sekuen DNA genom berdasarkan 16S rDNA. Tim peneliti tersebut berhasil mengkarakterisasi 5 isolat hasil isolasi bakteri endofit dari bagian daun, petiole, batang dan akar. Hasil analisis amplifikasi RAPD 16S rDNAnya menunjukkan kesamaan dan menunjukkan kelimanya berasal dari genus *Bacillus*.

2.4 Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*)-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

Teknik PCR merupakan teknik untuk keperluan amplifikasi DNA secara in vitro yang seringkali mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Amplifikasi DNA secara in vitro dengan PCR terdiri atas beberapa siklus yang setiap siklusnya

terdiri dari 3 tahap yaitu tahap denaturasi, pelekatan (*annealing*) dan pemanjangan (*elongasi*). Tahap denaturasi adalah pembentukan DNA utas tunggal dari DNA utas ganda (putusnya hidrogen dari kedua utas tunggal DNA yang komplementer) yang umumnya terjadi pada suhu 95°C. Tahap annealing yaitu pelekatan Primer yang terjadi pada suhu 35-65°C, bergantung panjang pendeknya oligonukleotida Primer yang digunakan. Sedangkan tahap pemanjangan Primer terjadi sebagai hasil aktivitas polimerisasi oleh enzim Taq polimerase, yang pada umumnya dilakukan pada suhu 70°C (Madigan *et al.*, 1997).

PCR-RAPD merupakan salah satu teknik molekuler berupa penggunaan penanda tertentu untuk mempelajari keanekaragaman genetika. Dasar analisis RAPD adalah menggunakan mesin PCR yang mampu mengamplifikasi sekuen DNA secara *in vitro*. Teknik ini melibatkan penempelan primer tertentu yang dirancang sesuai dengan kebutuhan. Tiap Primer boleh jadi berbeda untuk menelaah keanekaragaman genetik kelompok yang berbeda. Penggunaan teknik RAPD memang memungkinkan untuk mendeteksi polimorfisme fragmen DNA yang diseleksi dengan menggunakan satu primer arbitrase, terutama karena amplifikasi DNA secara *in vitro* dapat dilakukan dengan baik dan cepat dengan adanya PCR (Suryanto, 2009).

Penggunaan penanda RAPD relatif sederhana dan mudah dalam hal preparasi. Teknik RAPD memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan teknik molekuler lainnya. Teknik ini juga mampu menghasilkan jumlah karakter yang relative tidak terbatas, sehingga sangat membantu untuk keperluan analisis keanekaragaman organisme yang tidak diketahui latar belakang genomnya. Pada

tanaman tahunan RAPD dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi seleksi awal (Suryanto, 2009).

Beberapa teknik analisis keanekaragaman genetik seperti RAPD membutuhkan amplifikasi daerah genom tertentu dari suatu organisme. Amplifikasi gen membutuhkan Primer spesifik (sekuen oligonukelotida khusus) untuk daerah gen tersebut. Primer biasanya terdiri dari 10-20 nukleotida dan dirancang berdasarkan daerah konservatif dalam genom tersebut. Makin panjang Primer, makin harus spesifik daerah yang diamplifikasi. Jika suatu kelompok organisme memang berkerabat dekat, maka Primer dapat digunakan untuk mengamplifikasi daerah tertentu yang sama dalam genom kelompok tersebut. Beberapa faktor seperti konsentrasi DNA contoh, ukuran panjang Primer, komposisi basa Primer, konsentrasi ion Mg, dan suhu hibridisasi Primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik (Suryanto, 2001).

2.5 Gen 16S rDNA

Allah swt. telah menjelaskan tentang DNA yang sudah tercatat dalam al-Quran surat al-Qamar/54 : 51-53, yaitu:



“Maka adakah orang yang mau mengambil pelajaran? Dan segala sesuatu yang telah mereka perbuat tercatat dalam buku-buku catatan. Dan segala (urusan) yang kecil maupun yang besar adalah tertulis”, (Qs. al-Qamar/54 : 51-53).

Maksud dari ayat di atas adalah Allah swt. berfirman bahwa manusia sepatutnya bersyukur dan mengambil pelajaran secara sungguh-sungguh atas segala sesuatu ciptaan Allah swt. yang ada di bumi. Allah swt. telah menyampaikan secara terperinci sebagaimana proses kehidupan makhluk hidup mulai dari “sesuatu yang kecil” dapat diartikan sebagai suatu komponen kehidupan yang tidak tampak dengan alat indra secara langsung seperti DNA hingga “sesuatu yang besar” dapat diartikan sebagai suatu kehidupan yang tampak dengan alat indra seperti makhluk hidup salah satunya tanaman kentang. DNA merupakan komponen dari suatu makhluk hidup yang membawa kode-kode genetik, dimana kode-kode genetik tersebut akan membentuk karakteristik tertentu dari suatu makhluk hidup. Suatu karakteristik dapat mencirikan perbedaan makhluk hidup yang satu dengan yang lain. Perbedaan karakteristik suatu makhluk hidup ini dapat dipelajari lebih mendalam melalui bidang molekuler (Ahmad, 2008).

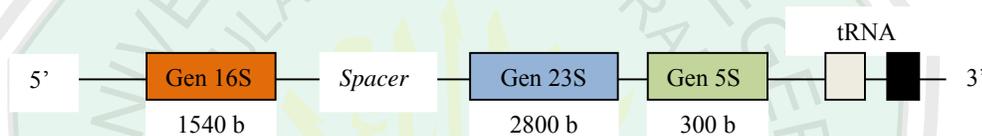
Para ahli bahasa menerangkan bahwa kata *mustathorun* yang berarti *pengaturan yang tertulis dengan rapi dan indah* pada ayat di atas dimaksudkan bahwa alam semesta ini diciptakan sangat rapi dan indah untuk kepentingan manusia. Oleh karena itu, manusia dituntut untuk mempelajari segala komponen kehidupan baik yang berukuran kecil maupun besar sesuai kemampuan akal fikiran serta ilmu pengetahuannya dan mengusahakan segala sesuatu untuk diambil manfaatnya, serta mengerti bagaimana mengembangkan potensi yang berasal dari DNA tersebut. (Assiba'i, 1993).

Kata “rapi dan indah” juga dapat dimaknai sebagai DNA yang terdiri dari gulungan-gulungan yang sangat kecil dan tersusun rapi, berbentuk dua rantai yang saling menempel di tengah-tengah, terdiri dari unsur-unsur basa nitrogen, molekul-molekul gula dan fosfat. Kedua rantai melingkari sebuah poros *imaginer* berbentuk spiral tergulung yang dikenal dengan nama *DNA Double Helix* (Pelczar, 2008).

Proporsi sekuen rDNA dari organisme yang berkerabat adalah hampir sama. Hal tersebut menunjukkan bahwa sekuen dari organisme yang berkerabat dapat diurutkan secara presisi dan membuat perbedaannya menjadi lebih mudah untuk diukur. Gen-gen pengkode rRNA yaitu rDNA digunakan secara ekstensif untuk membedakan secara taksonomi, filogeni (hubungan kekerabatan secara evolusi) dan untuk memperkirakan tingkat divergensi spesies antara bakteri. Perbandingan sekuen 16S rDNA dapat menunjukkan hubungan kekerabatan secara evolusi antar mikroorganisme. Dasar teori tersebut telah digunakan oleh peneliti pendahulu yaitu, Carl Woese yang mengajukan system klasifikasi tiga domain (*Archea*, *Bacteria* dan *Eucarya*) berdasarkan informasi sekuen rDNA. Pada Bakteri, *Archea*, mitokondria dan kloroplast, sub unit kecil ribosom mengandung 16S rRNA (S adalah satuan unit Svedberg). Bakteri memiliki gen 16S, 23S dan 5S rRNA yang terorganisir sebagai operon *cotranscribed*. Terdapat salah satu atau lebih salinan operon yang tersebar pada DNA genom (Marchesi, 1998).

Gen-gen yang mengkode pembentukan RNA ribosomal (rRNA) berada dalam satu operon yang sama (*rrn-operon*), secara berurutan dari ujung 5' gen

tersebut masing-masing adalah 16S rRNA, 23S rRNA dan 5S rRNA. Jumlah *rrn*-operon bervariasi mulai dari satu sampai 15 operon per total genom bakteri. Gen 16S rRNA berada pada ujung (terminus) 5' dan mengkode pembentukan RNA ribosomal pada sub unit kecil ribosom seperti yang terlihat pada gambar 2.2 Ketiga gen tersebut dipisahkan oleh daerah *spacer* (pengatur jarak) yang dinamakan ISR (*intergenic Spacer Region*). Bagian ini selanjutnya akan membentuk RNA transfer (tRNA) yang berperan pada proses sintesis protein (Bussema and Schmidt, 2009).



Gambar 2.2 *rrn*-operon pada pembentukan rRNA (Modifikasi dari Moat *et al.*, 2002).

Gen 16S rRNA berukuran panjang antara 1500-1550 pb dan kaya akan basa nitrogen guanine dan sitosin (Moat *et al.*, 2002). Pada gen 16S rRNA terdapat suatu daerah yang dinamakan daerah lestari (*conserved area*) dan daerah variable, sebagian atau seluruh urutan basa pada daerah inilah yang akan menjadi urutan basa yang akan dikenali oleh Primer gen 16S. Daerah lestari (*conserved area*) pada gen 16S rRNA umumnya umumnya memiliki ukuran sekitar 540 pb (Clarridge, 2004).

Beberapa Primer yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA (Marchesi *et al.* 1998), diantaranya adalah 27F dan 1492r. Namun kedua Primer tersebut belum dapat mengamplifikasi sampel bakteri yang berasal dari beragam sumber seperti sedimen laut dalam, bakteri rongga mulut, dan bakteri

yang diisolasi dari ephiliton (bakteri yang berasosiasi dengan batu pada habitat air mengalir).

